UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Lausanne Bern Zürich Genève-Pasadena
Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

H. NACHTSHEIM: Der Modellversuch am Tier in seiner Bedeutung für das Verständnis menschlicher Erbleiden . . 317

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

F. ZWICKY: Energy Content of Propellants and of Explosives 326
N. L. ALLINGER: The Relative Stabilities of *Cis* and *Trans* Isomers 328
G. FISCHER, S. GARDELL, and E. JORPES: On the Chemical Nature of Acerin and the Virucidal and Antiviral Effects of Some Vegetable Tannins 329
E. DODT: Ergebnisse der Flimmer-Elektroretinographie 330
W. v. BUDDENBROCK, I. MOLLER-RACKE und F. SCHALLER: Neue Experimente über die Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas* 333
R. L. MAYER, P. C. EISMAN, and E. A. KONOPKA: Antituberculosis Activity of Vinactane 335
H. ARUGA, S. KAWASE, and M. AKINO: Occurrence of an Enzyme Acting on Xanthopterin-B in *Bombyx mori* . . 336
N. L. WENDLER: Concerning the Biogenesis of Lysergic Acid 338
E. S. E. HAFEZ: Oestrus Activity in Fat-Tailed Sheep During the Longest Days 338
M. COLONNA: The Use of F.S.H. Gonadotrophins to Obtain Functioning Ovarian Grafts in the Anterior Chamber of the Eye 340
M. A. GEREBTZOFF et Z. M. BACQ: Examen histopathologique de souris irradiées après injection de cystéamine . . 341
S. HAJDUKOVIĆ, A. HERVE et V. VIDOVIĆ: Diminution de radiosensibilité du rat adulte en hypothermie profonde . 343
G. CUDKOWICZ: Perossido di idrogeno nei tessuti animali (Pro Experimentis) 344

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: E. WENKERT: The Role of Oxidation in the Biogenesis of Alkaloids 346
Studiorum progressus: N. G. GAYLORD: Some Generalizations Relative to Lithium Aluminium Hydride Reactions 351
Corrigendum 356

EXPERIENTIA

L'Experientia publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die Experientia stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

Experientia si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi,* in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientitici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni,* come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of Experientia is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings,* as well as through other communications.

E X P E R.

L'Experientia paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an Fr. 32.– pour la Suisse; pour l'étranger fr. 38.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.
Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'Experientia exclusivement à l'éditeur soussigné.
Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 2 mois avant la parution. Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.
Prix pour les annonces: 1/1 page fr. 220.–, ½ page fr. 132.–, ¼ page fr. 77.–. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.
L'Experientia est imprimée en Suisse.

Editions Birkhäuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 249800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Experientia esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 32.– per la Svizzera; all'estero fr. 38.–. I prezzi vanno intesi valuta svizzera.
Tutti gli invii alla redazione di Experientia vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.
La redazione di ogni fascicolo si chiude 2 mesi prima della pubblicazione.
Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.
Prezzi per annunci: 1/1 pag. fr. 220.–, ½ pag. fr. 132.–, ¼ pag. fr. 77.–; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.
Experientia si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhäuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 249800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

Die Experientia erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Algerien, Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 32.–, im Ausland sFr. 38.–.
Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschliesslich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluss 2 Monate vor Erscheinungsdatum.
Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.
Insertionspreise: 1/1 Seite Fr. 220.–, ½ Seite Fr. 132.–, ¼ Seite Fr. 77.–; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.
Die Experientia wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15
Tel. 249800; Telegrammadresse: Edita Basel

Experientia is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The annual subscription price by inland mail is fr. 32.–; other countries fr. 38.–. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers 2 months before the publication.
The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.
Prices for advertising: 1/1 page fr. 220.–, ½ page fr. 132.–, ¼ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 249800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia X/8

Birkhäuser AG., Basel
Ciba AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
Ozalid AG., Zürich
Sandoz AG., Basel
Clichés Steiner & Co., Basel

Neuerscheinungen

AUS DEM VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL/STUTTGART

IN KÜRZE WERDEN AUSGELIEFERT:

Lehrbuch der Logistik

Von Professor Dr. K. Dürr, ausserordentlicher Professor an der Universität Zürich, 181 Seiten, Ganzleinen Fr. 22.90, broschiert Fr. 19.80 (Sammlung LMW – Reihe der Grundlehren der exakten Wissenschaften, Band 2).

Aus dem Inhalt: 1. Teil: Der klassische Aussagenkalkül – 2. Teil: Logik der Quantifikation – Engere Logik der Quantifikation – Ansätze zur Entwicklung der erweiterten Logik der Quantifikation – Der erweiterte Aussagenkalkül – Erweiterte Logik der Funktionen – 3. Teil: Theorie der Identität, Lehre von den Kennzeichnungen, Kalkül der Klassen und Kalkül der Relationen – Theorie der Identität – Lehre von den Kennzeichnungen – Kalkül der Klassen und Kalkül der Relationen – Anhang: Tafeln, die die Definitionsgleichungen und die Thesen darstellen – Verzeichnis der Definitionen – Literaturverzeichnis.

Dieses Lehrbuch hat den Zweck, die Erlernung eines Kalküls zu ermöglichen. Die Darstellung der Formeln des Kalküls beruht auf Prinzipien, die der polnische Logistiker Jan Lukasiewicz aufgestellt hat. Die Formeln sind auf Tafeln zusammengestellt; im Text wird gezeigt, wie die Formeln zu beweisen sind.

Einführung in die Hochspannungstechnik

Von Dr. Max Wellauer, Maschinenfabrik Oerlikon, 331 Seiten mit 281 Abbildungen, Ganzleinen Fr. 29.65 (Lehrbücher der Elektrotechnik, Band 1).

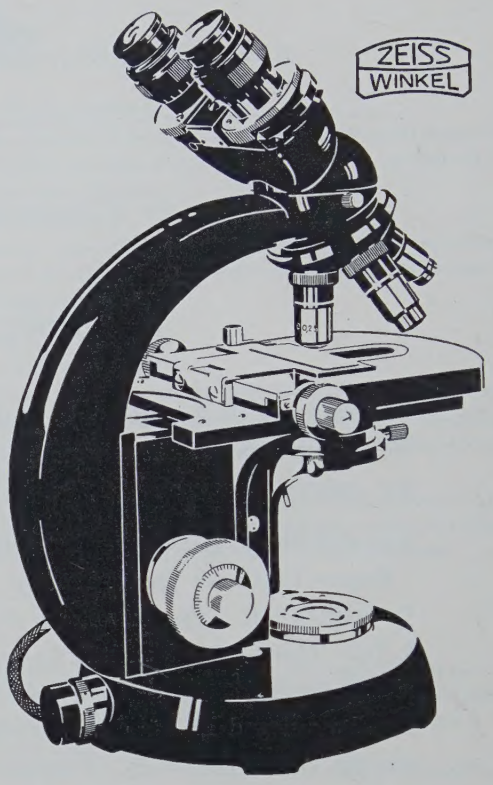
Aus dem Inhalt: Einleitung – Die Konstanten der Leitung – Leitungsübertragung auf Leitungen – Freileitungen – Kabel – Durchführungen, Stützisolatoren und Kabelendverschlüsse – Isolierung von Wicklungen – Unsymmetrische Belastung – Methode der symmetrischen Komponenten – Überspannungen, Stoßspannungen – Eigenschaften der Stossspannungen auf Leitungen – Verhalten der Isolation gegenüber Stoßspannungen – Verhalten von Transformatoren- und Maschinenwicklungen gegenüber Stoßspannungen – Überspannungsschutz – Koordination der Isolationsfestigkeit – Schutzeinrichtungen und Ableiter – Prüfeinrichtungen und Prüfmethoden der Stoßspannungen, Messtechnik – Stossspannungsprüfung von Transformatoren und Prüfung der Ableiter.

Sonderprospekte stehen auf Wunsch zur Verfügung · Zu beziehen durch jede Buchhandlung

NEUES **ZEISS**-WINKEL STANDARD-MIKROSKOP GF 625

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie**
- **Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Grosser Kreuztisch mit koaxial gelagerten, links- und rechtsseitig angebrachten Triebknöpfen**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrösserungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)**
- **Schlittenrevolver für fünf Objektive**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**
- **Neue Achromate und Neofluare mit dezimalgeometrischer Abstufung der Vergrösserungen**



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

Verlangen Sie bitte Prospekt Nr. ZW/502/E

GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TEL.(051) 23 97 73
Zürich

ORIGINAL HANAU-BRENNER
für Betrieb und Labor

ORIGINAL HANAU

Labor
Tauchlampen
Sterilisationslampen
Flutexlampen

Industrie
Stab-Tauchsieder aus Quarzglas
BI-Destillierapparate
Analysenlampen

OZALID AG ZÜRICH
Flaschengasse 5 Telephon (051) 24 47 57

EXPERIENTIA *Sammelmappe*

Diese Mappe hat den Zweck, die Hefte des laufenden Jahrganges zusammenzuhalten, bevor der komplette Jahrgang gebunden werden kann. Die einzelnen Hefte können mittels einer neuartigen patentierten Haltevorrichtung in die Mappe eingeheftet und im Bedarfsfall wieder herausgelöst werden. Mit dieser geschmackvoll in Kunstleder gebundenen Mappe soll dem Übelstand abgeholfen werden, daß einzelne Hefte im Laufe des Jahres verloren gehen und vor dem Einbinden nachbezogen werden müssen. Die Sammelmappe ist so massiv konstruiert, daß sie ihren Dienst auf Jahre hinaus leisten wird.

Preis in Kunstleder gebunden: Fr. 6.75

BESTELLSCHEIN

An den VERLAG BIRKHÄUSER AG., BASEL 10 (Schweiz)
Ich bestelle... Sammelmappe(n) zum Preise von Fr. 6.75

Name: Vorname:

Ort: Straße:

Bitte in Blockschrift schreiben

EXPERIENTIA

Vol. X - Fasc. 8 Pag. 317–356 15. VIII. 1954

Der Modellversuch am Tier in seiner Bedeutung für das Verständnis menschlicher Erbleiden[1]

Von HANS NACHTSHEIM[2], Berlin-Dahlem

Wenn in dem halben Jahrhundert, das seit der Wiederentdeckung der Mendelschen Vererbungsgesetze vergangen ist, die Genetik sich in einer Weise entfaltet hat wie kaum jemals zuvor ein neuer Zweig der Wissenschaft in so kurzer Zeit, so haben wir dies nicht zuletzt der neuen Methode zu verdanken, die GREGOR MENDEL einführte, der *systematischen Bastardanalyse mit Hilfe des Züchtungsexperimentes*. Nur vermittels des Kreuzungsversuchs war eine so eingehende Analyse des Genotypus möglich, wie sie für viele Pflanzen und Tiere heute vorliegt. Beim Menschen aber vermögen wir diese Methode nicht anzuwenden. Wenn auch die Humangenetik andere wertvolle Methoden entwickelt hat – es sei nur die Zwillingsmethode genannt –, so können diese doch das Züchtungsexperiment nicht ersetzen. Infolgedessen ist die Zahl der Merkmale – normaler wie pathologischer –, deren Erblichkeitsverhältnisse für den Menschen in wirklich befriedigender Weise klargelegt sind, gering. Überall klaffen Lücken in unseren Kenntnissen, immer wieder müssen wir uns mit Vermutungen begnügen.

Pflanze, Tier und Mensch sind indessen gleichen Erbgesetzen unterworfen, und nicht nur dies, es entstehen bei Tier und Mensch durch die gleiche Mutation oftmals die gleichen Veränderungen. Gewiss hat jede Art, jede Rasse, ja jedes einzelne Individuum Besonderheiten im Genotypus, aber ein gewisser Grundstock von Genen ist bei nach dem gleichen Bauplan – wie dem Bauplan «Säuger» – gebauten Lebewesen doch der gleiche, und wir stellen immer wieder fest, dass die Mutabilität homologer Gene sich bei den verschiedensten Säugern in gleichen Bahnen bewegt.

Bei einer vergleichenden Betrachtung menschlicher und tierischer Erbleiden ist man immer wieder überrascht über die vielfältige Parallelität der Erscheinungen. Das aber gibt uns die Möglichkeit, Fragen, die wir mit Hilfe der Methoden menschlicher Erbforschung nicht oder nur unbefriedigend beantworten können, am Tier experimentell zu prüfen und so die bestehenden Lücken zu schliessen. Wir können den Modellversuch am Tier in den Dienst der Humangenetik stellen.

Für diese Modellversuche eignen sich in erster Linie die sprichwörtlich gewordenen Versuchstiere, die kleinen Nager, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte und Maus, zu denen neuerdings noch der Goldhamster gekommen ist. Hier sind die Züchtungsmöglichkeiten am grössten. Auch Hund und Katze sind noch geeignet. Je grösser aber das Haustier, je länger seine Entwicklungsdauer und je geringer die Zahl seiner Nachkommen ist, um so ungeeigneter wird es für den experimentell arbeitenden Genetiker. Immerhin kann unter Umständen auch ein in engem Rahmen durchgeführtes Züchtungsexperiment an Rind oder Pferd für die menschliche Erbpathologie wichtige Erkenntnisse bringen.

Sehen wir uns nun an einer Reihe von Beispielen an, wie weit die Parallelität zwischen Mensch und Tier geht und welcher Art die Probleme sind, die wir mit Hilfe des Modellversuchs am Tier in Angriff nehmen können.

Eines der am längsten bekannten Erbleiden des Menschen ist die Bluterkrankheit, die *Hämophilie*. Auch der Erbgang dieses Leidens ist vollkommen klar, es ist das Schulbeispiel für geschlechtsgebundenrezessive Vererbung. *Eine* Frage aber war bis vor kurzem umstritten: Gibt es weibliche Bluter? Bei geschlechtsgebunden-rezessiver Vererbung genügt *ein* Blutergen in dem *einen* X-Chromosom des Mannes, um ihn zum Bluter werden zu lassen. Im weiblichen Geschlecht aber müssen *beide* X-Chromosomen Träger des Blutergens sein. Theoretisch kann infolgedessen ein homozygoter weiblicher Bluter nur entstehen bei der Verbindung einer Konduktorin, also eines im Blutergen heterozygoten weiblichen Individuums, mit einem Blutermann. Bei der den Bluterfamilien bekannten Schwere des Leidens und der hohen Letalität der männlichen Bluter schon vor Eintritt in die Geschlechtsreife ist eine Verbindung dieser Art von vornherein nur selten zu erwarten, und selbst wenn in einem solchen Falle Kinder gezeugt werden, wird in beiden Geschlechtern theoretisch die Hälfte

[1] Nach einem Vortrag in der Nederlandse Anthropogenetische Vereniging in Utrecht am 28. November 1953.

[2] Aus dem Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie in Berlin-Dahlem.

der Kinder gesund, die Hälfte krank sein. So würde jedes 4. Kind ein homozygoter weiblicher Bluter sein. Aber, so fragte man sich, ist bei der hohen Letalität der Individuen mit *einem* Blutergen nicht vielleicht mit völliger Letalität der Zygote mit *zwei* Blutergenen zu rechnen? Sterben die weiblichen Bluter bereits frühembryonal ab? Mangels geeigneten Beobachtungsmaterials liess sich die Frage für den Menschen nicht beantworten.

Hier kam uns der Tierversuch zu Hilfe. Beim Hund wurde die Bluterkrankheit bereits Mitte der dreissiger Jahre entdeckt, und zwar fast gleichzeitig unabhängig voneinander in Niederländisch-Indien bei Greyhounds (MERKENS, 1935–1937) und in England bei Aberdeen-Terriern (MCKINNA, 1936). In beiden Fällen wurden nur Rüden mit dem Leiden beobachtet, was für einen geschlechtsgebunden-rezessiven Erbgang der Hämophilie auch beim Hund spricht, doch konnte eine genaue Genanalyse nicht durchgeführt werden. Diese war erst HUTT, RICKARD und FIELD[1] sowie BRINKHOUS und GRAHAM[2] möglich, die den Nachweis erbrachten, dass die Hämophilie des Hundes sowohl in ihrem Krankheitsbild als auch in ihrem Erbgang völlig der des Menschen entspricht.

Die Blutungen beginnen beim Hund im Alter von 6 bis 13 Wochen. Es treten Lähmungen auf, Anschwellen der Gelenke infolge von Hämorrhagien, grosse subkutane Hämatome entstehen. Geringfügige Verletzungen können schon zum Verbluten führen, die Letalität ist höher als beim Menschen, das Blut gerinnt erst nach sehr langer Zeit.

Mit Hilfe bluterkranker Rüden und Konduktorinnen konnten bluterkranke Hündinnen gezüchtet werden. Sie verhalten sich ebenso wie die Rüden, auch hinsichtlich der Letalität, das heisst, zwei Blutergene wirken ebenso wie ein Blutergen. Transfusionen normalen Plasmas waren erfolgreich. Wie beim menschlichen Bluter ist auch beim Hund ein Plasmafaktor defekt, der für die normale Funktion der Blutplättchen und die Mobilisierung des Thromboplastins notwendig ist. Die Untersuchungen an dem Tiermaterial versprechen uns weitere Einblicke in den in vieler Hinsicht noch immer unklaren Gerinnungsvorgang.

Seit Durchführung dieser Hundeexperimente, die für das Verständnis der klinischen Erscheinungen und für die Therapie der Bluterkrankheit beim Menschen von Wichtigkeit sind, ist es ISRAËLS, LEMPERT und GILBERTSON[3] gelungen, auch den ersten sicheren weiblichen Bluter beim Menschen nachzuweisen und damit zu zeigen, dass die These vom frühembryonalen Absterben der im Blutergen homozygoten Früchte falsch ist. Die Probandin stammt von einem Bluter und von einer Konduktorin; die beiden nichtverwandten Eltern hatten jeder einen Bruder, der ebenfalls Bluter war. Die Probandin zeigt alle typischen Symptome männlicher Bluter, ihr Blut lässt sich mit Hilfe normalen Plasmas korrigieren. Sehr bemerkenswert ist der vollkommen normale Verlauf der Menstruation. Hier scheint ein übergeordneter Mechanismus einzugreifen. Eine Schwangerschaft der 24jährigen verlief ohne Komplikation und führte zur Geburt eines gesunden Mädchens. Während des Wochenbettes traten jedoch schwere Hämorrhagien auf, die die operative Entfernung der Gebärmutter erforderlich machten. Trotz schwerer Hämatome und wiederholter Blutungen im Anschluss an die Operation gelang es mit Hilfe mehrfacher Bluttransfusionen, die Patientin am Leben zu erhalten.

Die Gleichheit des Krankheitsbildes und die völlige Übereinstimmung in der anomalen Blutbeschaffenheit lassen kaum noch Zweifel an der Identität der Hämophilie bei Mensch und Hund. Die Lokalisation des Blutergens in beiden Fällen im X-Chromosom erhebt es wohl zur Gewissheit, dass hier homologe Gene im Spiele sind. Beim Menschen haben wir 24, beim Hund 39 Chromosomenpaare; sehr mit Recht betont HUTT[1], dass die Lokalisation beider Gene im gleichen Chromosom kaum als Zufall betrachtet werden kann.

Wir kennen aber noch ein zweites geschlechtsgebunden-rezessives Erbleiden des Menschen, das in gleicher Weise beim Tier, in diesem Falle dem Rind, nachgewiesen ist. Es handelt sich um ein erbliches Syndrom, eine *Symptomentrias*, bestehend aus *Hypotrichose*, *Anidrose* und *Anodontie*. Für den Menschen sind mehrere Sippen mit dem Leiden beschrieben worden. Am berühmtesten ist eine Familie in Sind (Pakistan), die schon von DARWIN erwähnt wird und sich bis zum Jahre 1780 zurückverfolgen lässt. In neuerer Zeit hat THADANI[2] mehrfach über die Familie berichtet. Die befallenen Männer sind zahnlos oder haben nur einige wenige Zähne, die Behaarung ist schwach, die wenigen Haare sind aussergewöhnlich fein und weich und gehen früh verloren, auch die Achsel- und Schamhaare sind ähnlich beschaffen oder fehlen ganz. Schweissdrüsen fehlen ebenfalls, und die Merkmalsträger leiden infolgedessen sehr unter heissem Wetter. Der Erbgang ist ganz klar geschlechtsgebunden-rezessiv, doch haben die Konduktorinnen bisweilen leichte Anzeichen des Leidens, eine Beobachtung, die man übrigens auch hin und wieder bei Konduktorinnen der Hämophilie macht, indem die Gerinnungszeit ihres Blutes gegenüber normalem Blut leicht verlängert sein kann (SKÖLD[3]). Beide Erbleiden verhalten sich also nicht absolut rezessiv.

[1] F. B. HUTT, C. G. RICKARD and R. A. FIELD, *Sex-linked Hemophilia in Dogs*, J. Hered. *39*, 2 (1948).

[2] K. M. BRINKHOUS and J. B. GRAHAM, *Hemophilia in the Female Dog*, Science *111*, 723 (1950).

[3] M. C. G. ISRAËLS, H. LEMPERT and ELIZABETH GILBERTSON, *Haemophilia in the Female*, Lancet *1951*, 1375.

[1] F. B. HUTT, *Homologous Sex-linked Mutations in Man and other Mammals*, Amer. Nat. *87*, 160 (1953).

[2] K. I. THADANI, *The toothless Man of Sind*, J. Hered. *25*, 483 (1934).

[3] E. SKÖLD, *Blood Coagulation in Conductors of Haemophilia*, Acta genet. statist. Med. *3*, 101 (1952).

Die gleiche Symptomentrias fanden DRIEUX, PRIOUZEAU, THIÉRY und PRIOUZEAU[1] in Frankreich als Erbleiden beim Rind. Die Kälber – alle männlichen Geschlechts – sind bei Geburt haarlos, später entsteht ein ganz dünnes und feines Haarkleid. Zähne fehlen, bei einem Kalb entwickelten sich bis zum Alter von 6 Monaten 2 Zähne, die beiden 1. Molaren im Oberkiefer links und rechts. Die Schweissdrüsen sind nach histologischen Befunden zystisch entartet und haben keine ausführenden Kanäle, sind also nicht funktionsfähig.

Den 24 Chromosomenpaaren beim Menschen stehen 30 beim Rind gegenüber. Die Verfasser nehmen – übrigens ohne das Syndrom beim Menschen zu kennen – beim Rind geschlechtsgebunden-rezessive Vererbung an. Mit ihren Befunden steht diese Annahme im Einklang, wenn auch das Material gering ist und das *Experimentum crucis* fehlt, die Paarung eines mit dem Syndrom behafteten Bullen mit einer Konduktorin. Hier zeigt sich die eingangs erwähnte geringe Eignung des Rindes für derartige Experimente. Der Züchter, in dessen Herde das Erbleiden beobachtet wurde, hat nur den Wunsch, die krankhafte Erbanlage baldigst loszuwerden, aber kein Interesse daran, einen haar-, zahn- und schweissdrüsenlosen Bullen aufzuziehen und mit ihm zu züchten, um auch noch derart defekte Kuhkälber zu gewinnen. Für den Wissenschaftler andererseits ist ein Versuch dieser Art auf genügend breiter Basis im allgemeinen ein zu kostspieliges Experiment. So werden wir wohl in diesem Falle auf eine zufriedenstellende Analyse verzichten müssen.

Eines der schönsten Beispiele für den Wert des Modellversuches am Tier für die Humangenetik, das ausserdem zeigt, wie die Probleme durch gleichzeitige Untersuchungen an beiden Objekten gefördert werden können, ist die *Pelger-Anomalie*, eine im Jahre 1928 von dem holländischen Tuberkulosearzt PELGER bei zweien seiner Patienten entdeckte Besonderheit der Leukozyten, die in einer Hemmung der Kernsegmentierung besteht. Insbesondere die Kerne der Neutrophilen weisen nicht, wie üblich, im reifen Zustande 3, 4, 5 und mehr Segmente auf, sondern es kommt nur zu einer einfachen Segmentierung, zum sogenannten Zwickerstadium. Nur selten beobachtet man einen aus 3 Segmenten bestehenden Kern, höhere Segmentierungsgrade fehlen. Das Bild erinnert, oberflächlich betrachtet, an eine sogenannte Linksverschiebung, an eine durch Infektion oder Entzündung hervorgerufene Überschwemmung des kreisenden Blutes mit jugendlichen, noch unreifen, das heisst noch nicht voll segmentierten Neutrophilen. Die Zwickerformen der Pelger-Zellen aber sind voll ausgereifte Kerne; sie sind von unreifen Zweisegmentierten an ihrer Kernstruktur zu unterscheiden. Eine starke Pyknose des Chromatins stellt offenbar die Ursache der Segmentierungshemmung dar, die im Gegensatz zur Linksverschiebung zeitlebens besteht.

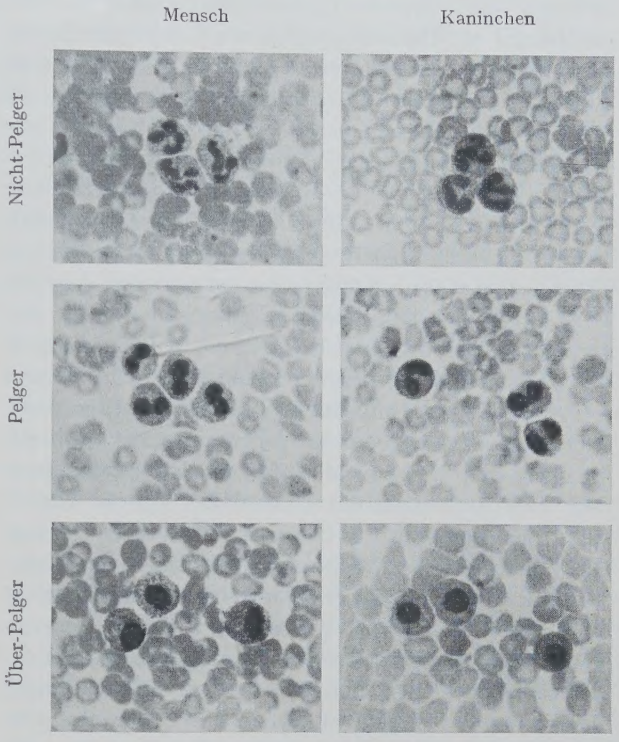


Abb. 1. Die Pelger-Anomalie bei Mensch und Kaninchen. In der Mitte jedes Bildes einige Leukozyten (Neutrophile), umgeben von Erythrozyten. – Obere Reihe: normal segmentierte Neutrophile (Nicht-Pelger). Mittlere Reihe: Neutrophile der heterozygoten Pelger. Untere Reihe: Neutrophile der homozygoten Pelger (Über-Pelger).

Die einfach-dominante Vererbung der Pelger-Anomalie wurde erstmals durch HUËT (1932) festgestellt und ist seither immer wieder bestätigt worden. Man fand Sippen mit der Anomalie nicht nur bei der europiden, sondern auch bei der mongoliden Rasse. Die Bedeutung der Anomalie war lange umstritten. PELGER selbst brachte sie in Verbindung mit der Tuberkulose und betrachtete sie als ein ungünstiges Prognostikum für deren Verlauf, während sie von anderer Seite als klinisch bedeutungslose Blutvariante angesehen wurde, als ein harmloses «Spiel der Natur».

Dies war der Stand unserer Kenntnisse, als UNDRITZ 1938 die Pelger-Anomalie auch beim Kaninchen entdeckte und ihre einfach-dominante Vererbung nachwies. Sowohl im Blutbild als auch im Erbgang ist die Übereinstimmung mit dem Menschen vollständig; hier wie dort ist die Penetranz des Pelger-Gens 100%ig. Sämtliche bis dahin beobachteten Pelger-Menschen und Pelger-Kaninchen waren indessen Heterozygoten. Ein im Pelger-Gen homozygotes Individuum kann nur aus der Paarung zweier (heterozygoter) Pelger-Eltern hervorgehen. Dieser von NACHTSHEIM[1] erstmals mit Pelger-Kaninchen durchgeführte

[1] H. DRIEUX, M. PRIOUZEAU, G. THIÉRY und M.-L. PRIOUZEAU, *Hypotrichose congénitale avec anodontie, acérie et macroglossie chez le veau*, Rec. Méd. vétér. *126*, 385 (1950).

[1] H. NACHTSHEIM, *Die Pelger-Anomalie und ihre Vererbung bei Mensch und Tier*, I und II, Erbarzt *10*, 175 (1942); *11*, 129 (1943).

Versuch erbrachte den Nachweis einer sehr hohen Letalität der Pelger-Homozygoten beim Kaninchen. Weitaus die meisten Homozygoten sterben frühembryonal ab. Die wenigen bis zur Geburt am Leben bleibenden Homozygoten unterscheiden sich sehr charakteristisch von den Heterozygoten. Bei den als «Über-Pelger» bezeichneten Homozygoten ist die Kernsegmentierung der Leukozyten völlig unterdrückt, sie besitzen ausnahmslos einfache runde Kerne (Abb. 1). Und während man die heterozygoten Pelger von den Nichtträgern des Gens äusserlich im Phänotypus nicht zu unterscheiden vermag, sind die Über-Pelger deutlich gekennzeichnet. Sie werden mit geringerem Geburtsgewicht geboren, bleiben auch in der nachgeburtlichen Entwicklung stark zurück und weisen eine ausgesprochene Phokomelie, eine mehr oder weniger weitgehende Verkürzung der Röhrenknochen aller Extremitäten auf. Nach den eingehenden Untersuchungen der Über-Pelger durch KLEIN[1] stellt das homozygote Pelger-Kaninchen in seinem Krankheitsbild einen typischen Fall von Chondrodystrophie dar. Die Sterblichkeit der Über-Pelger ist sehr gross, die meisten sterben nach der Geburt an einer durch die Fixation des Thorax bedingten Entfaltungsstörung der Lungen und an einem daraus resultierenden Lungenemphysem. Bisher konnten nur 2 Über-Pelger bis ins geschlechtsreife Alter gebracht werden.

Die experimentell gewonnenen Befunde am Tier lassen auch die Pelger-Anomalie beim Menschen in ganz neuem Lichte erscheinen. Zahlreiche Fragen tauchen auf: Wie ist die Häufigkeit der Pelger-Anomalie in einer gesunden menschlichen Population, ist die Lebenserwartung der Pelger geringer als die der Nicht-Pelger, bestehen irgendwelche Beziehungen zu bestimmten Erkrankungen, wie gross ist – nach der Frequenz des Gens berechnet – die Wahrscheinlichkeit der Entstehung homozygoter Pelger-Menschen, wie ist ihr Blutbild und ihr sonstiger Phänotypus, sind sie letal oder vital?

Durch Untersuchung einer unausgelesenen gesunden Population von etwa 20000 Berlinern beider Geschlechter, aller Altersstufen und aller sozialen Schichten konnten wir nachweisen, dass – zum mindesten in der Berliner Bevölkerung – die Häufigkeit der Pelger knapp $1‰$ beträgt, und zwar wurden unter den 20000 Individuen 18 Pelger gefunden. Durch anschliessende Familienuntersuchung der Probanden konnte in den meisten Fällen die einfach-dominante Vererbung der Anomalie über mehrere Generationen verfolgt werden (NACHTSHEIM[2]). In der untersuchten Population sind, wie gesagt, alle Altersstufen vertreten, vom Säugling bis zum 80jährigen, auch unter den Pelgern, und ein Vergleich der Häufigkeit der Pelger mit den Nicht-Pelgern in den einzelnen Altersstufen führt zu der Feststellung, dass der Promillesatz der Pelger in den höheren Altersstufen nicht absinkt, dass also die (heterozygoten) Pelger hinsichtlich ihrer Lebenserwartung gegenüber den Nicht-Pelgern nicht wesentlich beeinträchtigt sind. Mit Hilfe dieses Materials und der im Schrifttum niedergelegten Daten liess sich weiterhin die Mutationsrate des Pelger-Gens abschätzen; sie beträgt etwa 1 mutiertes Gen auf 37000 Gameten (zur Methode der Berechnung der Mutationsrate vgl. NACHTSHEIM[1]).

Bei einer Häufigkeit der Pelger von $1‰$ in einer menschlichen Population ist unter $1000 \times 1000 = 1$ Million Verbindungen 1mal die Kombination Pelger × Pelger zu erwarten. Von den Kindern aus dieser Verbindung ist theoretisch jedes 4. ein homozygoter Pelger, so dass wir unter 4 Millionen Geburten mit *einem* homozygoten Pelger rechnen können. Die Wahrscheinlichkeit, die Kombination Pelger × Pelger und unter ihren Nachkommen einen Homozygoten zu finden, ist somit sehr gering. Es muss daher als ein besonders glücklicher Zufall gelten, dass es unlängst einer holländischen Kinderärztin, Frau HAVERKAMP-BEGEMANN[2], gelang, einen homozygoten Pelger nachzuweisen. Das 2½ Jahre alte Kind stammt aus einer Pelger-Sippe, die Eltern sind Geschwisterkinder und beide (heterozygote) Pelger. Das Blutbild des Kindes (Abb.1, unten links) entspricht dem eines Über-Pelger-Kaninchens, die Kerne der Neutrophilen sind gänzlich unsegmentiert und weisen ein sehr grobscholliges Chromatin auf.

Ein Unterschied scheint freilich zwischen den homozygoten Pelgern bei Mensch und Kaninchen zu bestehen. Nach den bisherigen Angaben ist das 2½ Jahre alte Kind zwar körperlich und geistig in der Entwicklung zurückgeblieben und leidet an epileptischen Anfällen, ist aber im Knochensystem nach röntgenologischer Untersuchung normal, Phokomelie und Chondrodystrophie sind nicht vorhanden. Ob hier in der Tat eine wesentliche Differenz in der Genwirkung zwischen Mensch und Tier gegeben ist, lässt sich nach dem einen Fall, zumal bei dem gegenwärtigen Stand der klinischen Untersuchung, noch nicht definitiv entscheiden. Auch die «Epilepsie» des Kindes, an der auch der Vater und andere Familienangehörige leiden sollen, ist eingehend nicht untersucht worden. Ein Zusammenhang mit der Pelger-Anomalie ist nicht wahrscheinlich. Schliesslich lässt sich auch über Lebensfähigkeit und Lebenserwartung des homozygo-

[1] H. KLEIN, *Die Pelger-Anomalie der Leukozyten und die pathologische Anatomie des neugeborenen homozygoten Pelger-Kaninchens. Ein Beitrag zum Formenkreis der fetalen Chondrodystrophie*, Z. menschl. Vererb. Konstit.lehre *29*, 551 (1949).

[2] H. NACHTSHEIM, *The Pelger-Anomaly in Man and Rabbit. A Mendelian Character of the Nuclei of the Leucocytes*, J. Hered. *41*, 131 (1950).

[1] H. NACHTSHEIM, *Die Mutabilität menschlicher Gene*, Proc. IX. Intern. Congr. Genetics, Bellagio 1953 (im Druck, erscheint 1954).

[2] N. HAVERKAMP BEGEMANN and A. VAN LOOKEREN CAMPAGNE, *Homozygous Form of Pelger-Huët's Nuclear Anomaly in Man*, Acta haemat. *7*, 295 (1952).

ten Pelger-Menschen allgemein noch nichts Endgültiges sagen. Es ist immerhin bemerkenswert, dass von 9 Schwangerschaften der Mutter des Kindes 3 (darunter die letzte *nach* Feststellung der Pelger-Anomalie) vorzeitig zu Ende gegangen sind, 3 Kinder starben früh (nach Angaben der Mutter an Diphtherie, Durchfall bzw. Krämpfen), 3 Kinder leben, die beiden Geschwister des homozygoten Pelger-Kindes sind Nicht-Pelger. Leider ist über die nicht normal zu Ende gegangenen Schwangerschaften und über die frühverstorbenen Kinder Näheres nicht bekannt.

Die im Schrifttum niedergelegten Fälle umfassen zusammen mit unseren eigenen bisher 70 menschliche Pelger-Sippen, von denen wir 24, das heisst ein Drittel, in Berlin nachweisen konnten. Durch unsere populationsgenetischen Untersuchungen erhielten wir ein Material in die Hand, das es gestattet, eine grössere Anzahl Pelger-Sippen miteinander zu vergleichen. Hierbei zeigte sich eine sehr charakteristische interfamiliäre Variabilität des Pelger-Merkmals. Der Hemmungsgrad der Kernsegmentierung der Leukozyten ist in den einzelnen Familien verschieden, es lassen sich 3 Typen nachweisen. Für dieses Variieren gibt es mehrere Erklärungsmöglichkeiten: 1. Heterogenie, 2. multiple Allelie, 3. unterschiedliche Gengesellschaft. Zwischen Heterogenie und multipler Allelie zu unterscheiden, ist beim Menschen ohne das Experiment schwer, im Tierversuch ist es leicht. Er spricht für multiple Allelie, doch sind die experimentellen Arbeiten noch im Gange (NACHTSHEIM[1], H. HARM[2]).

Weitere Probleme, die durch die Pelger-Anomalie beim Menschen zur Diskussion gestellt werden, sind die Frage der sogenannten Teilträger und die der Phänokopien. Unter einem Pelger-Teilträger versteht man ein Individuum, das nur einen gewissen Prozentsatz Pelger-Zellen, im übrigen aber normale Leukozyten besitzt. Hat diese Erscheinung etwas mit dem Pelger-Gen zu tun? Kann das Pelger-Merkmal unter dem Einfluss exogener Faktoren auch als nichterbliches Erscheinungsbild, als Phänokopie auftreten? Alle diese Probleme, am Menschen allein kaum lösbar, können wir mit dem Modellversuch am Tier angehen (H. HARM[3]), doch müssen wir an dieser Stelle auf eingehendere Darlegung dieser Versuche verzichten.

Eine schwere körperliche Missbildung stellen beim Menschen *Spalthand* und *Spaltfuss* – im Englischen als «lobster-claw», Hummerschere, bezeichnet – dar. Bei typischer Spalthand bzw. Spaltfuss fehlt der mediane Strahl, doch besteht eine sehr grosse Variabilität der Missbildung, weniger intraindividuell und intrafamiliär als interfamiliär. Die Hände sind häufiger und stärker betroffen und variieren mehr als die Füsse. Im extremsten Falle sind alle Finger bis auf einen rückgebildet, bisweilen sind mehrere Strahlen zu einem verschmolzen (Syndaktylie).

Der Erbgang der Missbildung ist einfach-dominant; sie lässt sich oftmals über 4, 5 Generationen verfolgen. Die Penetranz des Gens ist sehr hoch, wenn auch, wie gesagt, die Expressivität interfamiliär grossen Schwankungen unterworfen ist. Vielleicht sind hier, ähnlich wie bei der Pelger-Anomalie, mehrere Allele eines Gens im Spiel. Alle bisher beobachteten Spalthandträger sind Heterozygoten. Nachkommen aus einer Verbindung zweier Spalthandträger, von denen 25% Homozygoten sein sollten, sind unseres Wissens noch nicht beobachtet worden.

Seit kurzem besitzen wir einen Stamm Spalthandkatzen. Unter Katzen, die zu physiologischen Versuchen bestimmt waren, wurde in London eine weibliche Katze mit Spalthand an den vorderen Extremitäten entdeckt (SEARLE[1]). Bei Paarung mit normalen Katern brachte sie in 5 Würfen innerhalb von 16 Monaten 26 lebende Junge, darunter 7 mit Spalthand. Röntgenbilder zeigen ganz die gleichen Anomalien wie beim Menschen. Die mittleren Strahlen sind mehr oder weniger rückgebildet, auch hier kommen Syndaktylien vor, «cross-bones» verbinden bisweilen benachbarte Strahlen. Bei den bisher beobachteten Spalthandkatzen ist die Missbildung auf die vorderen Extremitäten beschränkt, betroffen von der Missbildung sind vor allem der 2. und 3. Strahl, die Variabilität innerhalb der Familie ist nicht sehr gross und entspricht etwa den Verhältnissen beim Menschen. Die Spalthandkatzen sind durchaus vital und voll fruchtbar.

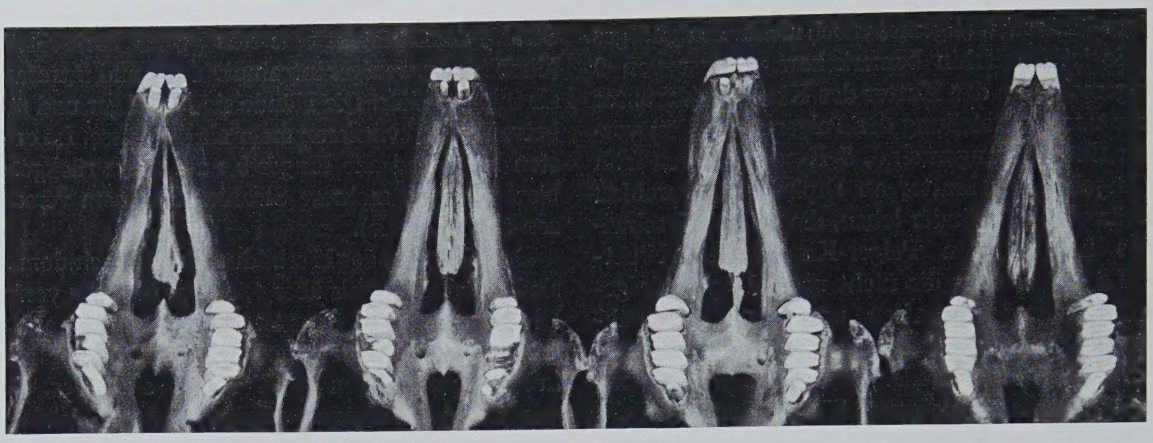
Die bisherigen Züchtungsversuche sind zwar noch nicht umfangreich, gestatten aber schon den Schluss, dass der Erbgang der gleiche ist wie bei der Spalthand des Menschen, einfach-dominant. Das Zahlenverhältnis 19 normal : 7 anomal in den Versuchen, das theoretisch 13:13 sein sollte, spricht für die Wirksamkeit eines Gens in heterozygotem Zustand, das sich aber nicht immer manifestiert. Die Weiterzüchtung des Stammes wird die Möglichkeit geben, die Variationsbreite der Missbildung in der Familie noch eingehender zu studieren und vor allem auch die für den Menschen noch unbekannten Homozygoten zu gewinnen. Ausserdem lässt sich an embryologischem Tiermaterial unschwer die Entwicklung der Spalthand in allen ihren Stadien untersuchen, und so können die theoretischen Vorstellungen, die man sich über die Entstehung der Spalthand beim Menschen gemacht hat, empirisch geprüft werden. Diese Möglichkeit beliebig umfang-

[1] H. NACHTSHEIM, *Vergleichende Erbpathologie der Blutkrankheiten – am Beispiel der Pelger-Anomalie betrachtet*, Arch. Julius-Klaus-Stift., Zürich *25*, 566 (1950); *Die Mutabilität menschlicher Gene*, Proc. IX. intern. Congr. Genetics, Bellagio 1953 (im Druck, erscheint 1954).

[2] HELGA HARM, *Beiträge zur Morphologie und Genetik der Pelger-Anomalie bei Mensch und Kaninchen*, Z. menschl. Vererb. Konstit.-lehre *30*, 501 (1952).

[3] HELGA HARM, *Beeinflussung des weissen Blutbildes von Pelger- und Nicht-Pelger-Kaninchen durch Colchizin*, Acta haemat. *10*, 95 (1953).

[1] A. G. SEARLE, *Hereditary "Split-hand" in the Domestic Cat*, Ann. Eugen. *17*, 279 (1953).



a *b* *c* *d*

Abb. 2. Rückbildung der oberen zweiten Inzisiven beim Kaninchen. *a* Normale I^2 beim Deutschen Riesenkaninchen, Durchmesser je 1,8 mm; *b* I^2 vorhanden, rechter I^2 (im Bilde links) jedoch rudimentär, Durchmesser rechts 1,2 mm, links 2 mm, Deutsches Riesenkaninchen; *c* rechter I^2 normal, Durchmesser 1,6 mm, linker fehlt, Deutsches Widderkaninchen; *d* beide I^2 fehlen, Englisches Widderkaninchen.

reicher embryologischer Studien, die beim Menschen nur ganz ausnahmsweise einmal gegeben ist, ist ein besonders wichtiger Vorteil zahlreicher Modellversuche am Tier.

Das folgende Beispiel zeigt uns das gleiche Domestikationsproblem bei Mensch und Tier. Das Zahnpaar, das bei Mensch und Kaninchen am häufigsten erblich variiert, ist das *2. Paar Inzisiven im Oberkiefer* (I^2). Die Rückbildung der I^2 und ihr Fehlen sind aber ein ausgesprochenes Domestikationsmerkmal. Bei primitiven Menschenrassen ist das Fehlen der I^2 selten, wenn überhaupt beobachtet, bei den Kulturrassen ist es sehr häufig. So haben bei den Weissen Europas und Amerikas 3–6% aller Individuen erbliche I^2-Defekte. In einem Schweizer Bergdorf, einem kleinen Isolat mit sehr viel Inzucht, fand JÖHR (1934) sogar ein Drittel aller Einwohner mit derartigen Zahndefekten behaftet. Ähnliche Durchschnittszahlen wie für die Europiden wurden auch bei Mongoliden (Japanern und Chinesen) gefunden sowie bei den Negern Nordamerikas, die ja grösstenteils Mulatten sind. Bei gewissen Negerstämmen Afrikas hingegen wurden nur 1,5% der Individuen mit defekten I^2 gefunden, und bei den Bantu, den Melanesiern und den Ureinwohnern Australiens ist das Merkmal überhaupt nicht nachgewiesen.

Hierzu die Parallele beim Kaninchen. Bei umfangreichen Untersuchungen (NACHTSHEIM[1], *in extenso* noch unveröffentlicht) an Wild- und Hauskaninchen konnten wir beim Wildtier nur in *zwei* Fällen einseitiges Fehlen der I^2 feststellen, das heisst bei 0,4% des Gesamtmaterials, und zwar einmal bei einem mitteleuropäischen, einmal bei einem australischen Wildkaninchen; beiderseitiges Fehlen der I^2 kam überhaupt nicht vor. Bei den untersuchten Hauskaninchen hingegen fehlten bei 5,4% der Tiere die I^2 einseitig oder vollständig, und zwar ist das Fehlen dieses Zahnpaares um so häufiger, je mehr sich das Hauskaninchen im Laufe der Domestikation gegenüber dem Wildtyp verändert hat; bei den Riesenrassen hatten 10% der Individuen I^2-Defekte.

Bei Mensch und Kaninchen beobachtet man alle Stufen der Rudimentierung dieses Zahnpaares. An die Stelle der oberen 2. Schneidezähne kann beim Menschen eine Miniaturform treten, ein- oder beiderseitig. Bei fortgeschrittener Rudimentierung wird nur ein Zapfen- oder Kegelzahn gebildet, bis schliesslich der Zahn überhaupt nicht mehr zur Entwicklung kommt. Beim Kaninchen sind schon normalerweise die 2. Schneidezähne des Oberkiefers, die hinter den grossen Nagezähnen, den I^1, stehen, nur kleine Stiftzähne. Trotzdem lassen sich auch hier mehrere Stufen der Rückbildung unterscheiden, beginnend mit einer schwachen Verkleinerung des Zahnes im Durchmesser über fadendünne, gänzlich funktionsunfähige Kümmerformen, die auch alsbald wieder verlorengehen, bis zum Fehlen des Zahnes von Anfang an (Abb. 2). Auch hier sind links und rechts alle Kombinationen der Rückbildung und normaler Zähne möglich. Bei Mensch und Kaninchen ist von dem Rückbildungsprozess nur die 2. Dentition betroffen, die Milchzähne sind normal.

Die Unterentwicklung der I^2 wird in beiden Fällen dominant vererbt, doch verhält sich das Merkmal sehr entwicklungslabil, es manifestiert sich nicht immer. *Eine* Dosis des Gens *kann* genügen, um die Zahnentwicklung beiderseits zu unterdrücken. Die Wirkung des Gens kann aber auch so schwach sein bzw. so spät einsetzen, dass normale I^2 zustande kommen. Beim Kaninchen lässt sich eine leichte Wirkung des Gens auch dann noch an einem verzögerten Zahnwechsel feststellen. Zwischen den Extremen gibt es alle Übergänge. Geschlechtsunterschiede bestehen nicht. Unter 1500 Tieren mit I^2-Defekten war bei 42% die Rudi-

[1] H. NACHTSHEIM, *Erbleiden beim Tier in ihrer Bedeutung für die menschliche Erbpathologie*, Naturwissenschaften *32*, 348 (1944).

mentierung symmetrisch, links sind die Defekte häufiger als rechts. Grad des Defektes und der Symmetrie sind aber auch stark von der genischen Zusammensetzung der Population abhängig. Bei den homozygoten Trägern des zugeordneten Gens fehlen die I^2 fast stets beiderseits gänzlich. Ein nachteiliger Einfluss der Homozygotie auf das Individuum ist nicht nachweisbar. Für den Menschen ist unsere Kenntnis der entsprechenden Verhältnisse noch sehr lückenhaft. In einigen wenigen Fällen ist hier auch das Fehlen der Milch-I^2 beobachtet worden, doch scheint dabei ein anderes Gen im Spiele zu sein. Auch soll das Fehlen der I^2 als Mikrosymptom eines die Hasenscharte bedingenden Gens auftreten können.

Im Gegensatz zum Tier sind weitaus die meisten für den Menschen bekannten Erbkrankheiten – mit Ausnahme der geschlechtsgebunden vererbten – dominant erblich. Hierin liegt indessen kein prinzipieller Unterschied zwischen Mensch und Tier. Der Unterschied ist nur dadurch gegeben, dass sich rezessive Erbleiden beim Menschen schwerer erfassen lassen. Sie treten ja nur auf, wenn zwei krankhafte Allele des gleichen Gens zusammenkommen, wenn also das betreffende Allel durch *beide* Eltern vererbt wird. Je seltener das Allel in der Population und je geringer die Inzucht, um so geringer ist die Wahrscheinlichkeit für das Zusammentreffen der gleichen rezessiven Allele. Beim Versuchstier gibt es *keine* seltenen Erbkrankheiten. Auch dafür ein Beispiel.

Bei der *Marmorknochenkrankheit* oder *Osteopetrose* der Jugendlichen ist die spongiöse Knochensubstanz stark verdichtet und bildet eine kompakte Masse, das Knochenmark ist weitgehend durch fibröses Mark ersetzt. Knochenbrüchigkeit, Zahnveränderungen, Störungen der Blutbildung sind die Folge. Die Erkrankung kann schon vor der Geburt einsetzen oder beginnt in frühester Kindheit. Schwere Anämien können zum Tode führen, bei Fällen im frühen Kindesalter beträgt die Mortalität 60%. Die Vererbung des Leidens, das beide Geschlechter gleichmässig befällt, erfolgt einfach-rezessiv, die Penetranz ist 100%ig. Bis heute sind indessen noch keine 100 Fälle von dem Leiden bekannt geworden.

Vor wenigen Jahren konnten Pearce[1] und Brown ein der infantilen Form der Marmorknochenkrankheit entsprechendes Erbleiden beim Kaninchen nachweisen. Die wichtigsten Symptome sind: abnorme Knochen- und Zahnentwicklung, Wachstumshemmung, Anämien und fortschreitende Kachexie. Der Tod tritt spätestens in der 4.–5. Lebenswoche ein. Auch die Knochenbefunde entsprechen denen beim Menschen: Kompaktwerden der Spongiosa, bindegewebige Infiltration, Fehlen der Markhöhle und des Knochenmarkes, dadurch starke Reduktion des hämopoetischen Gewebes. Den Mesenchymzellen fehlt die Fähigkeit zu normaler Differenzierung und Entwicklung. Wie beim Menschen ist der Erbgang einfach-rezessiv, nicht geschlechtsgebunden, die Heterozygoten haben keine Besonderheiten.

Für den Menschen sind, wie erwähnt, noch keine 100 Fälle des Leidens bekannt. Pearce und Brown haben allein 293 von ihnen gezüchtete Tiere mit Osteopetrose untersucht und mit ihren normalen Geschwistern verglichen, und zwar *intravital* und *post mortem*, pathologisch-anatomisch und histopathologisch, embryologisch, röntgenologisch, hämatologisch, physiologisch-chemisch und genetisch. Unsere Kenntnisse von der Marmorknochenkrankheit sind durch diese Arbeiten mehr gefördert worden als durch alle Arbeiten an menschlichem Material zuvor.

Oftmals sind die Krankheitsbezeichnungen in der Humanmedizin Sammelnamen, hinter denen sich Leiden sehr verschiedener Ätiologie, teils umweltbedingt, teils vom Erbgut abhängig, verbergen können. Es werden oft Krankheiten mit demselben Namen belegt, wenn das Hauptsymptom das gleiche ist, während die übrigen Symptome in den einzelnen Fällen erhebliche Verschiedenheiten aufzeigen können. Auch Erkrankungsalter und Krankheitsverlauf können mehr oder weniger stark voneinander abweichen. In dem Gefühl, dass durch eine kurze Krankheitsbezeichnung oft heterogene Dinge zusammengefasst werden, spricht man neuerdings vielfach von *Formenkreisen* einer Krankheit, zum Beispiel vom Formenkreis der Epilepsie, der rheumatischen Erkrankungen usw. Auf Grund der tierexperimentellen Erfahrungen kann es als sicher gelten, dass diese Formenkreise nicht nur umwelt- *und* erbbedingte Leiden umfassen, sondern dass auch unter den erblichen Formen noch eine Fülle verschiedener Erbbilder gegeben ist. Wissen wir doch, dass beim Tier nicht nur ähnliche, sondern sogar völlig übereinstimmende Erbleiden oftmals genotypisch verschieden bedingt sind.

Der Formenkreis der *Chondrodystrophie* umfasst beim Kaninchen heute bereits drei erbliche, auch klinisch verschiedene Formen. Die erste Form, von Brown und Pearce[1] entdeckt und eingehend untersucht, wird einfach-rezessiv vererbt und wirkt unbedingt letal. Die Jungen werden tot geboren oder sterben kurz nach der Geburt. Im Erscheinungsbild und hinsichtlich der Skelettbeschaffenheit stimmen die chondrodystrophen Kaninchenzwerge weitgehend mit den menschlichen Chondrodystrophen und denen bei Rind und Hund überein. Die zweite Form, von Crary und Sawin[2] entdeckt, wird zwar ebenfalls einfach-rezessiv vererbt, wirkt aber nicht letal. Die Tiere unterscheiden sich bei der Geburt äusserlich nicht von normalen Tieren,

[1] Louise Pearce and W. H. Brown, *Hereditary Osteopetrosis of the Rabbit*, I–IV, J. exper. Med. *88*, 579, 597 (1948); *92*, 591, 601 (1950).

[1] W. H. Brown and Louise Pearce, *Hereditary Achondroplasia in the Rabbit*, I—III, J. exper. Med. *82*, 241, 261, 281 (1945).

[2] D. D. Crary and P. B. Sawin, *A Second Recessive Achondroplasia*, J. Hered. *13*, 254 (1952).

können aber im Röntgenbild an Besonderheiten des Skelettsystems erkannt werden. Bei der weiteren Entwicklung treten starke Veränderungen im Knochensystem auf als Folge einer Verzögerung der endochondralen Verknöcherung. Die Extremitäten bleiben stark verkürzt, Hüft- und Schultergelenke sind deformiert, auch das Achsenskelett ist betroffen. Ob die Gene dieser beiden Chondrodystrophie-Typen etwa Allele sind, bleibt noch zu prüfen.

Von der dritten Form der Chondrodystrophie beim Kaninchen haben wir schon gesprochen, es ist der homozygote Pelger. Hinsichtlich des Hauptsymptoms, der Kernbeschaffenheit der Granulozyten, zeigt die Pelger-Anomalie einen dominanten oder, wenn man so will, intermediären Erbgang. Das Symptom Chondrodystrophie aber kennzeichnet nur die Homozygoten, verhält sich also rezessiv. Auch diese Form in Kombination mit den beiden anderen Formen zu prüfen, ist noch Aufgabe der Zukunft.

Sind die drei Formen von Chondrodystrophie beim Kaninchen im Krankheitsbild unschwer zu unterscheiden, so ist dies in anderen Fällen, wie bei der *Keratose* des Kaninchens, nicht so. Auch hier kennen wir drei Typen. Die Haut zeigt eine übermässig starke Verhornung. Infolgedessen besteht das Haarkleid fast nur aus Grannenhaaren, die feinen Wollhaare werden zwar angelegt, vermögen aber die Haut nicht zu durchbrechen, die Tiere bleiben pelzlos. Phänisch ist eine Unterscheidung der drei Typen kaum möglich. Es bestehen zwar geringe Unterschiede im Verhornungsgrad, doch ist, da wir eine gewisse Variation bei allen Typen feststellen können und sich die Variationskurven stark überschneiden, eine sichere Klassifikation des einzelnen Individuums nicht möglich. Der Erbgang ist bei allen drei Typen der gleiche: einfachrezessiv bei 100%iger Penetranz des Merkmals, die empirischen Spaltungszahlen in F_2 und RF_2 entsprechen den theoretischen. Infolge des Fehlens des Wärmeschutzes ist die Sterblichkeit der Tiere mit Keratose sehr hoch, doch ist es möglich, sie ins fortpflanzungsfähige Alter zu bringen und sogar mit ihnen zu züchten, wenn man sie dauernd in optimaler Temperatur hält. Paarung von Tieren mit Keratose gleichen Typs führt zur Reinzucht, Kreuzung zweier Tiere verschiedener Typen liefert eine normale F_1, wodurch die genische Verschiedenheit der drei Typen bewiesen wird. Ähnliches gilt für die drei phänisch gleichen Typen von Kurzhaarkaninchen; für zwei von diesen drei Kurzhaargenen konnten wir die Lokalisation im gleichen Chromosom, also eine Koppelung nachweisen (CASTLE und NACHTSHEIM[1], NACHTSHEIM[2]). Für den Menschen ist eine derartige Analyse mangels des Experimentes eine Unmöglichkeit.

Wohl das bunteste Bild bietet der Formenkreis der *choreatischen Erkrankungen* der Hausmaus. Etwa ein Dutzend genisch verschiedene Bewegungsstörungen ist experimentell nachgewiesen. Neben dem ältesten bekannten Typ, der japanischen Tanzmaus, unterscheidet man Schüttler, Kreisler, Purzler, Dreher, Zucker, Zitterer usw. Die Verschiedenheit der Bezeichnungen bringt schon zum Ausdruck, dass gewisse Unterschiede in der Art der Bewegungsstörungen gegeben sind, doch sind auch hier Typen bekannt, wie bei den Schüttlern, die phänisch übereinstimmen und nur genisch voneinander abweichen. Differenzen zwischen den Typen können auch hinsichtlich eines weiteren Symptoms, des Hörvermögens, bestehen. Während Tänzer und Schüttler taub sind oder doch nach wenigen Lebenswochen ertauben, verhalten sich andere, wie die Kreisler, in dieser Hinsicht normal. Untersuchungen am Gehörorgan der Tauben haben Störungen am Vestibular- und Cochlearapparat ergeben, doch wechselt das anatomische Bild stark. Die primäre Ursache für das Syndrom ist augenscheinlich nicht im Gehörapparat, sondern im Gehirn zu suchen, wo eine Degeneration im Gesamtgebiet des *Nervus acusticus*, zum mindesten bei der Tanzmaus, ermittelt werden konnte. Der Erbgang der meisten Typen ist monomer-rezessiv, bei den Kreislern dimer-rezessiv. Die Penetranz ist fast stets 100%ig, bei einigen Typen schwankt die Manifestierung. Jeder Typ züchtet in sich konstant, bei der Kreuzung zweier Typen entstehen stets nur normale Nachkommen in F_1.

Eine weitere Komplikation ist dadurch gegeben, dass viele als erblich bekannte Krankheiten und Missbildungen in ganz ähnlicher Form auch exogen bedingt entstehen können. Anenzephalie, Mikrozephalie, Hydrozephalie, Spina bifida, Epilepsie, Katarakt, Blindheit, Taubheit, Hasenscharte, Klumpfuss, um nur ein paar Beispiele zu nennen, sind auch als sogenannte Phänokopien (GOLDSCHMIDT, 1935) bekannt. Seit im Jahre 1941 festgestellt wurde, dass bei einer Rötelnepidemie in Australien 90% der Kinder, deren Mütter während der ersten Schwangerschaftsmonate die Rubeola-Infektion durchgemacht hatten, mit Missbildungen geboren wurden, hat man den Phänokopien auch beim Menschen wachsende Aufmerksamkeit geschenkt. Wir wissen heute, dass auch andere Viruserkrankungen und sonstige Infektionskrankheiten Embryopathien erzeugen können. Weiter können toxische Stoffe, Sauerstoffmangel, Vitaminmangel, allgemeine Unterernährung fruchtschädigend wirken. Dem experimentell arbeitenden Erbpathologen und dem Entwicklungsphysiologen eröffnet sich hier ein weites Arbeitsfeld, mit Hilfe des Modellversuchs am Tier lassen sich zahlreiche Probleme, und zwar von theo-

[1] W. E. CASTLE and H. NACHTSHEIM, *Linkage Interrelations of Three Genes for Rex (short) Coat in the Rabbit*, Proc. Nat. Acad. Sci. *19*, 1006 (1933).

[2] H. NACHTSHEIM, *Kurzhaarkaninchen – drei genotypisch verschiedene Mutanten mit dem gleichen Phänotypus*, Erbarzt *1*, 97 (1934).

Abb. 3. *Brachygnathia superior* beim Kaninchen. Links: normaler Schädel eines 7 Wochen alten Kaninchens. Mitte: Schädel eines gleich alten Wurfgeschwisters, der Oberkiefer ist so weit verkürzt, dass die oberen Nagezähne die unteren nicht mehr übergreifen und sich nicht mehr normal abnutzen. Rechts: Schädel eines 2 Monate alten Kaninchens aus dem gleichen Stamm, die unteren Nagezähne übergreifen die oberen, eine normale Funktion ist nicht mehr möglich, sie nutzen sich nicht mehr ab.

retischer wie auch praktischer Bedeutung, in Angriff nehmen. Wertvolle Ergebnisse sind bereits erzielt worden – es seien hier nur die Arbeitskreise von LANDAUER, WARKANY und BÜCHNER genannt[1] –, doch liegt die meiste Arbeit noch vor uns. Wir müssen uns an dieser Stelle mit einem kurzen Hinweis begnügen.

Es ist selbstverständlich, dass bei der vergleichenden Betrachtung der Erbleiden von Mensch und Tier die Organisationsunterschiede zwischen im System immerhin weit voneinander entfernten Säugern nicht ausser acht gelassen werden dürfen. Das Nervensystem eines Kaninchens zum Beispiel ist einfacher organisiert als das eines Menschen. Daraus resultieren Unterschiede in der Entstehung und Entwicklung von Erbleiden, selbst wenn homologe Gene im Spiele sind. Die einfachere Organisation kann bei der experimentellen Analyse von Vorteil sein. Nehmen wir die *Epilepsie* als Beispiel. Der epileptische Krampfanfall beruht auf einem ubiquitären Mechanismus, der bei jedem Säuger vorhanden ist. Durch verschiedene Methoden, wie Cardiazolinjektionen, Elektroschock, können wir bei jedem Individuum, ob Epileptiker oder nicht, einen Krampfanfall auslösen, der in ganz charakteristischen Phasen verläuft. Beim Menschen mit seinem hochdifferenzierten Nervensystem gibt es eine Reihe von Spielarten der Epilepsie, die Grundsymptome können durch übergeordnete Faktoren mehr oder weniger verschleiert werden. Ohne das Experiment ist eine genetische Analyse dieser Faktoren ausserordentlich schwer, wenn nicht unmöglich. Beim Kaninchen hingegen können wir den epileptischen Anfall, sei er spontan oder induziert, sozusagen in reiner Form studieren, ohne das durch die höhere Organisation bedingte Beiwerk, sowie an genetisch durchaus einheitlichem Material. Nur so ist es möglich, dem Wesen der Krampfbereitschaft und des Krampfanfalles näher zu kommen und Richtlinien für die Beurteilung der komplizierteren Verhältnisse beim Menschen zu gewinnen (NACHTSHEIM[1], RUHENSTROTH-BAUER und NACHTSHEIM[2]).

Der Mensch als höchststehender Organismus bietet nun aber keineswegs immer kompliziertere Verhältnisse dar als das Tier. Artspezifische Merkmale können bedingen, dass eine beim Menschen harmlose Mutation sich beim Tier letal auswirkt.

Die *Brachygnathia superior*, das heisst eine durch Zusammenstauchung der Oberkieferknochen entstehende Verkürzung des Gesichtsschädels, wird bei Mensch und Tier als mutativ auftretendes Merkmal beobachtet. Beim Menschen bedeutet dies für den Träger im allgemeinen nicht mehr als einen Schönheitsfehler, bei manchen Haustieren, wie bei einer Reihe von Hunderassen, wird die Brachygnathia superior sogar als Rassemerkmal gezüchtet. So soll bei der Englischen Dogge das Gesicht möglichst kurz sein, mit breiter, stumpfer, deutlich aufwärts gerichteter Schnauze, so dass der Unterkiefer den Oberkiefer überragt und die unteren Schneidezähne vorstehen. Ein «Bulldogkaninchen» hingegen lässt sich nicht züchten. Zwar ist auch hier die zu *Brachygnathia superior* führende Mutation beobachtet worden, aber die Besonderheiten der Zähne des Kaninchens, vor allem der Nagezähne, machen ein Kaninchen mit dieser Brachygnathie lebensunfähig. Wie bei allen Nagern sind auch die Zähne des Kaninchens wurzellos und wachsen zeitlebens. Sie müssen, um nicht zu lang zu werden, dauernd abgenutzt werden. Das ist besonders bei den grossen Nagezähnen wichtig, die ein sehr lebhaftes Wachstum zeigen; bei einem Kaninchen mittlerer Grösse beträgt das Wachstum eines der grossen unteren Nagezähne bis zu 13 cm im Jahr. Die für die Nager so wichtigen Nagezähne von Ober- und Unterkiefer können nur dann richtig funktionieren, wenn sie die

[1] H. NACHTSHEIM, *Für und wider die Sterilisierung aus eugenischer Indikation* (Thieme-Verlag, Stuttgart 1952).

[1] H. NACHTSHEIM, *Krampfbereitschaft und Genotypus*, I–III, Z. menschl. Vererb. Konstit.lehre *22*, 791 (1939); *25*, 229 (1941); *26*, 22 (1942).

[2] G. RUHENSTROTH-BAUER und H. NACHTSHEIM, *Die Bedeutung des Sauerstoffmangels für die Auslösung des epileptischen Anfalls. Nach Versuchen an epileptischen Kaninchen.* Klin. Wschr. *23*, 18 (1944).

normale Stellung zueinander haben, das heisst, wenn beim Kieferschluss die oberen Nagezähne die unteren übergreifen (Abb. 3, links). Mit den oberen Zähnen wird die Nahrung, eine Rübe zum Beispiel, festgehalten, in der Hauptsache mit den unteren wird das Nagen besorgt. Bleibt nun der Oberkiefer im Wachstum zurück, so greifen die Nagezähne schliesslich nicht mehr *über*einander, sondern stossen *auf*einander. Dies beeinträchtigt bereits die Funktion der Zähne, sie nutzen sich nicht mehr keilförmig ab, sondern flach (Abb. 3, Mitte). Bei noch stärkerer Verkürzung des Oberkiefers kommen die Nagezähne in umgekehrte Stellung als normal, die unteren Inzisiven greifen jetzt beim Kieferschluss über die oberen. Damit sind die Zähne ausser Funktion gesetzt, vermögen sich nicht mehr abzunutzen und werden überlang (Abb. 3 rechts). Einem solchen Kaninchen wächst innerhalb verhältnismässig kurzer Zeit das Maul regelrecht zu, es muss verhungern, wenn es nicht künstlich mit Weichfutter ernährt wird und die Nagezähne immer wieder abgekniffen werden. So wirkt sich hier die an sich harmlos erscheinende Kieferanomalie infolge der Besonderheit der Nagezähne letal aus.

Fassen wir zusammen. Das Gen*gefüge* im System voneinander entfernt stehender Arten, wie Mensch und Kaninchen, ist verschieden. Viele *Einzelgene* haben aber auch diese Säuger gemeinsam. Die Mutabilität homologer Gene bewegt sich in den gleichen Bahnen und führt zu übereinstimmenden Änderungen im Erbbild. Ob im Erscheinungsbild der Individuen übereinstimmende Änderungen erzielt werden, hängt von dem Gengefüge der jeweiligen Arten ab, von ihren art-, gattungs-, familienspezifischen Merkmalen. In jedem Falle aber vermag uns die vergleichende experimentelle Methode durch den Modellversuch am Tier für das Verständnis der menschlichen Erbleiden wichtige Erkenntnisse zu vermitteln.

Summary

The mutation of homologous genes can produce the same changes in phenotype in different mammals, animals as well as human beings. In this way the same hereditary disease can arise in man and animal. This fact permits the study of human hereditary diseases in model experiments in animals under conditions impossible to be realized in man. How far the parallelism between human beings and animals can be taken and where the limits of this parallelism are, which are the problems of the comparative heredo-pathology in detail, and how these problems may be attacked, is demonstrated here in numerous examples.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Energy Content of Propellants and of Explosives

With the advent of jet propulsion some new chemical problems have made their appearance which have certain peculiar characteristics not ordinarily considered. For instance, in order to estimate the value of a self-contained propellant combination incorporating both fuel and oxidizer it is important to know the energies q_m and q_v respectively which 1 g or 1 cm³ of such a propellant can release. It is likewise important to know the volume of gas generated per gram and per cm³ of total propellant as well as a certain average ratio $\bar{\gamma}$ of the specific heats c_p and c_v at constant pressures and constant volumes respectively of the reaction products through an adequate range of temperatures[1]. All of these problems which are also of importance if one wishes to calculate the power of chemical explosives can be satisfactorily dealt with through a general morphological analysis, which will be reported upon in another place. We here wish to call attention only to a few factors which decisively influence the values q_v, that is the energies generated per unit volume of the originally solid and liquid propellants or explosives.

Propellants and explosives with gaseous reaction products. We first notice that common explosives and propellants generate at best energies q_v which are in the range 1–3 kcal/cm³. This is in particular true for those reagent complexes which contain no other elements besides carbon, hydrogen, nitrogen and oxygen. In Table I a few of these are listed. q_m is the energy generated per gram while $\bar{\varrho}$ is the average density of the explosive. Thus $q_v = \bar{\varrho} \times q_m$ is the energy released per cm³ of the original combination.

The reaction products in all of the cases listed are *gaseous*. This fact limits the values of q_v for two fundamental reasons. First, in order to achieve all gaseous components the original solid explosives may first thought to be sublimated and subsequently reacted. The heats of sublimation are thus essentially lost. Secondly, gases such as H_2O, CO and CO_2 dissociate relatively easily at the elevated temperatures resulting from an explosion and the values of q_v are thus further depressed.

[1] F. ZWICKY, J. Amer. Rocket Soc. *84*, 3 (1951).

Table I

Propellant	q_m kcal/g	$\bar{\varrho}$ g/cm³	q_v kcal/cm³
C(amorphous) + O_2 (liquid) . . .	2·08	1·28	2·67
C(amorphous) + $2O_3$ (liquid) . . .	1·49	1·71	2·60
$2H_2$(liquid) + 0_2(liquid)	3·60	0·42	1·52
$C_6H_5N_3O_7$ TNT	0·63	1·65	1·04
CH_3NO_2 Nitromethane	1·06	1·13	1·20
$C_7H_5N_5O_8$ Tetryl	0·87	1·73	1·51
$C_3H_6N_6O_6$ RDX	1·22	1·82	2·22
$C_3H_5N_3O_9$ Nitroglycerin . .	1·51	1·59	2·40
$C(CH_2ONO_2)_4$ PETN	1·40	1·77	2·47

In considering fluorine, chlorine, and other oxidizers similar conditions prevail. One may therefore state generally that if all reaction products of a chemical composition are gaseous the energy q_v released per cm³ of the original composition is less than about 3 kcal/cm³.

Reagents which give rise to solid and liquid reaction products. From the considerations given above it follows that heats of reaction superior to 3 kcal per cm³ of the original reagent composition can only be expected if the reaction products contain liquid and solid components. In Table II a few examples are listed which bear out this expectation.

Table II

Reagent Composition	q_m kal/g	g/cm³	q_v kcal/cm³
$Ti+C = TiC$	1·83	3·66	6·70
$Ca+2Si = CaSi_2$	2·3	1·81	4·16
$Fe_2O_3+2Al = 2Fe+Al_2O_3$. . . .	0·85	4·75	4·03
$8Al + 3KClO_4 = 3KCl+4Al_2O_3$. .	2·40	2·58	6·20
$3PbO_2+4Al = 2Al_2O_3+Pb$ . . .	0·68	7·1	4·85
$4Al+3H_2O_2 = 2Al_2O_3+3H_2$. . .	2·50	1·91	4·80

It is thus seen that as soon as for instance carbon in the solid state is retained in the reaction products or appropriate solids such as Al_2O_3 are formed, the energies released per cm³ of the original compositions can be materially greater than $q_v = 3$ kcal/cm³ which roughly represents the upper limit of what can be achieved with explosives giving rise to gaseous reaction products only.

Pratical applications. Although it is an advantage in some cases to use propellants for rockets whose energy content per unit volume rather than per gram is as high as possible, it is usually more important that in addition to sufficiently large values of the specific heats c_p and c_v per gram and of their ratio, the energy q_m available per gram be great. On the other hand, explosive power is intimately related to great energy content per unit volume. In addition it is naturally imperative that an explosive also generate at least a moderate amount of gas in order to transfer the energy generated rapidly to the surrounding medium. A composition such as "thermit" shown in the third row of Table II is very ineffective as an explosive in spite of its elevated value of q_v. This consideration leads to the following two suggestions of how one is to proceed.

The first suggestion is to combine gas generating explosive compositions such as they are shown in Table I with compositions of the type shown in Table II. Thus one may for instance immerse pellets or granules of thermit in nitromethane, TNT and so on, and explode the mixture with the desired effects.

The second suggestion is to incorporate the desirable elements chemically, rather than physically in the original explosives. As an illustration the following reaction may be considered:

$$2\,Al\,(BH_4)_3 + 6\,O_2\,(liquid) = Al_2O_3 + 3\,B_2O_3 + 12\,H_2.$$

Here the oxidation of aluminum and boron furnishes the desired heat of reaction while the released hydrogen provides for the necessary gas. Since aluminum borohydride has a heat of formation which is roughly equal to zero we obtain 1260 kcal as the total heat released for the above combination in gram moles.

From this it follows that $q_m = 3{\cdot}75$ kcal per gram of the original propellants, whose average density is $\varrho = 1{\cdot}08$ g/cm³. Consequently, $q_v = 4{\cdot}07$ kcal/cm³. The volume of hydrogen generated is about 800 l per kg of the original chemical composition, a volume which is quite adequate when compared with the amounts of gases obtained from conventional explosives. For the compositions of Table I the maximum amounts of gas generated range from 510 l/kg for C + O_2(liquid) to about 1100 l/kg for nitromethane and 1240 l/kg for the liquids of $2H_2 + O_2$. Instead of liquid-liquid propellants, as in the example, one may of course also use solid-solid compositions such as $2LiBH_4 + KClO_4$. From these considerations it follows that the simple and the combined hydrides and nitrides of such light elements as Li, Be, B, Na, Mg, Al, Si and so on are promising candidates as components for powerful explosive compositions.

Some of the combinations shown in Table II may of course be quite useless as explosives or additives to explosives unless they can be brought themselves to detonate. There are several means to accomplish this, but these will not be discussed here. It may only be mentioned that $Al(BH_4)_3$ is "hypergolic" with O_2, H_2O, H_2O_2 at room temperature, that is, it reacts on contact with these substances. Actually the corresponding reactions are quite explosive in character and release in fact per cm³ the high energies which we have quoted in the preceding. Most light element borohydrides as well as aluminohydrides[1] react (hydrolize) explosively on contact with H_2O and H_2O_2. Aluminum and magnesium powder in watery suspension can be detonated by the application of proper thermomechanical shocks. The same is true for most of the reactions shown in Table II. Whenever any of these reactions go to completion the energies released per cm³ are of course equal to those calculated from thermochemical principles and thus the simple theorem which has been discussed in this note is confirmed by a great variety of experimental data.

Mixtures such as thermit and others of the types shown in Table II may be used to form solid inserts for sharped charges upon whose detonation these inserts are ignited and ejected at high speed. Self reacting particles are accelerated to higher velocities and possess in general higher power of penetration than those obtained from the conventional inert solid inserts[2]. Also, projectiles within which a chemical reaction of the type shown in Table II takes place can be used as artificial meteors which in contradistinction to natural meteors

[1] D. T. Hurd, *Chemistry of the Hydrides* (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1952).

[2] G. Birkhoff, D. P. MacDougall, E. M. Pugh, and G. Taylor, J. Appl. Phys. *19*, 563 (1948).

are luminous even when travelling through a very high vacuum such as it exists in interplanetary space[1].

F. Zwicky

California Institute of Technology, Pasadena, California, February 22, 1954.

Zusammenfassung

Gewöhnliche Explosivmittel und Raketentriebstoffe entwickeln nach Zündung Reaktionswärmen, welche den Wert $q_v = 3$ kcal je cm³ nicht überschreiten. Dies gilt besonders für Kombinationen, die nur Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Sauerstoff enthalten. Da die Reaktionsprodukte solcher Triebstoffe alle gasförmig sind, geht im wesentlichen die Sublimationswärme der ursprünglich festen Stoffe verloren, und die Werte von q_v erscheinen entsprechend niedriger. Im gleichen Sinne wirkt die relativ leichte Dissozierbarkeit von CO, CO_2 und H_2O bei den resultierenden Explosionstemperaturen. Um grössere Werte von q_v zu erzielen, müssen deshalb Elemente, wie Lithium, Bor, Magnesium, Aluminium und Silizium, in die Explosivstoffe eingebaut werden, die nach Detonation feste und flüssige Oxyde und Verbindungen liefern. Es wird an Hand einiger Beispiele gezeigt, dass auf diese Weise Energiemengen verfügbar werden, die im Bereich von 4 bis 7 kcal je cm³ liegen. Zur praktischen Ausführung können die genannten Leichtelemente entweder physikalisch einem gewöhnlichen Explosivstoff beigemischt werden, oder es können diese Elemente mit Wasserstoff, Stickstoff und eventuell Sauerstoff, Fluor usw. zur Verbindung gebracht und mit einem zusätzlichen Oxydationsmittel reagiert werden. Falls man in explosiven Hohlladungen potentiell selbstreagierende Einlagen aus komprimiertem Thermit oder ähnlichen Kompositionen benutzt, werden nach Detonation glühende Teilchen grosser Geschwindigkeit und grosser Durchdringungsfähigkeit ausgeschleudert. Diese Teilchen können auch als in einem Vakuum wie dem interplanetarischen Raum selbstleuchtende künstliche Meteore zu Experimenten verschiedener Art benutzt werden[2].

[1] F. Zwicky, Engineering and Science Monthly, Calif. Inst. of Technology, Pasadena, January 1953.

[2] G. Birkhoff, D. M. MacDougall, E. M. Pugh and G. Taylor, J. Appl. Phys. *19*, 563 (1948).

The Relative Stabilities of *Cis* and *Trans* Isomers

The original rule for determining from physical properties which isomer in a cyclic system was *cis* and which was *trans* was proposed by von Auwers[1]. Unfortunately, this rule was found not to hold true in several cases and much confusion has been caused thereby. Most of these cases in which the rule of von Auwers fails to predict the isomers correctly show a consistency, a consideration of which has prompted a restatement of the original rule. With respect to *cis* and *trans* isomers in cyclic systems, *that isomer which has the highest boiling point, highest index of refraction and highest density is the isomer which possesses the least stable configuration.* It is apparent that the structures predicted by this rule will differ from those predicted by von Auwers rule only when the *trans* isomer is less stable than the *cis*.

[1] K. von Auwers, Ann. Chem. *420*, 84 (1920).

The rule stated above is substantiated by an amount of experimental evidence which is too large to be discussed here except for certain cases of particular importance. It need only be said that of the hydrocarbons listed in various compilations[1], no exception to the rule was found[2]. Compounds containing functional groups were not exhaustively considered, but out of some dozen cases examined the predictions of the rule were confirmed with only one questionable case[3].

Three critical cases may be specifically mentioned. *cis*-1, 3-Dimethylcyclohexane is known[4] to be more stable than the *trans* isomer, and it was also recently shown that the same is true of the 1, 3-dimethylcyclopentanes[5]. A somewhat different type of system, [0, 3, 3]-bicyclooctane, also has a more stable *cis* isomer in contrast with the homologous hydrindanes[6] and decalins. In each of these cases the correct structures are predicted by the rule stated.

Although there is little evidence available[1] to support the contention, it is reasonable to suppose that the rule will apply to more highly subsituted systems and likewise to small- and large-ring compounds, and will thus be of practical value since the relative stabilities of the compounds can be determined in most cases by conformational analysis[7].

The existence of the rule stated above can be rationalized by qualitative theoretical considerations. An ideal case is a pair of simple *cis* and *trans* isomers of a cyclic saturated hydrocarbon. In such a case the forces acting in and between the molecules are quite similar and the differences in the physical properties of the compounds are due to a minimum number of differences in the forces acting. In this case it is evident that the isomer which has the greatest density and the greatest index of refraction has these properties as a result of its smaller molecular volume. It is equally true, if less obvious, that the smaller molecular volume leads to the higher boiling point[8] since the smaller molecular volume increases the magnitude of the dispersion forces which in turn leads to an increased heat of vaporization. The smaller molecular volume also requires the crowding together of the atoms within the molecule and, because of the internal repulsive forces encountered, a lower stability results. The rule stated is evidently a direct result of these effects and it may thus be determined what kinds of circumstances are required to cause the rule to fail.

An olefinic double bond may be considered in a formal sense as a two-membered ring and as such should also fit the rule. Consequently, the properties of some dozens of mono-olefinic hydrocarbons were considered[9] and, although in many cases the data are of insufficient accuracy to be definitive, no clear cut contradictions were found. Of particular interest are the isomers of

[1] G. Egloff, *Physical Constants of Hydrocarbons* (Reinhold, New York, N.Y. – J. S. Faraday, *Encyclopedia of Hydrocarbon Compounds* (Chemindex, Manchester, 1945–52). – A. P. I. Tables, National Bureau of Standards.

[2] Account must be taken of the fact that some of the compounds listed as *cis* in the tables have since been shown to be *trans* and vice versa.

[3] A. Skita and R. Rössler, Ber. dtsch. chem. Ges. *72*, 265 (1939).

[4] C. W. Beckett, K. S. Pitzer, and R. Spitzer, J. Amer. Chem. Soc. *69*, 2488 (1947).

[5] S. F. Birch and R. A. Dean, J. Chem. Soc. *1953*, 2477.

[6] W. Hückel, Ann. Chem. *533*, 1 (1937).

[7] D. H. R. Barton, J. Chem. Soc. *1953*, 1027.

[8] T. W. Richards, Trans. Faraday Soc. *24*, 111 (1928).

[9] G. Egloff, *Physical Constants of Hydrocarbons* (Reinhold, New York, N.Y. – J. S. Faraday, *Encyclopedia of Hydrocarbon Compounds* (Chemindex, Manchester, 1945–52). – A. P. I. Tables, National Bureau of Standards.

cyclooctene[1], cyclononene[2], and cyclodecene[3]. From the published physical constants the rule predicts that with the eight-membered ring the *cis* isomer would be the more stable, while the reverse would be true in the ten-membered ring and the isomers in the nine-membered ring would have nearly equal stabilities. The same orders of stability were found by chemical methods.

It is to be noted, however, that applications of the rule to olefins can be made with certainty only with mono-olefinic hydrocarbons. The reason for this limitation is that a double bond possesses electronic properties not shared by the other ring compounds and, in the presence of certain functional groups, interactions can occur which will overshadow the differences in the dispersion forces. As an example, 2-alkenoic acids are, as a class, known to be exactly reversed from the hydrocarbons with respect to the properties previously mentioned.

N. L. Allinger

Department of Chemistry, University of California, Los Angeles 24, California, February 26, 1954.

Zusammenfassung

Eine Neufassung der von-Auwerschen Regel ist vorgeschlagen worden. Die neue Regel ist auf *cis-* und *trans-*Isomeren gewöhnlicher zyklischer Systeme sowie auch auf mehrfach substituierte zyklische Verbindungen, polyzyklische Verbindungen und Olefine anwendbar. Das Bestehen einer solchen Regel ist begründet, und ihre Begrenzungen und praktischen Auswertungen sind unter Betracht gezogen worden.

[1] K. Ziegler and H. Wilms, Ann. chem. *567*, 1 (1950).

[2] A. T. Blomquist, L. H. Liu, and J. C. Bohrer, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 3643 (1952).

[3] A. T. Blomquist, R. E. Burge, Jr., and A. C. Sucsy, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 3636 (1952).

On the Chemical Nature of Acerin and the Virucidal and Antiviral Effects of Some Vegetable Tannins[1]

In a search for virucidal and antiviral substances in nature, one of us (G.F.) in 1952[2] found that water extracts of several plants exerted a definite virucidal effect, the main experiments being performed with a bacterial virus and its host cell, *Escherichia coli* XP. Out of 300 different plant species investigated, the majority yielded no activity, whereas fairly active extracts were obtained from some of them.

In his next communication, Fischer[3] reported on the virucidal and antiviral effect of maple fruit preparations. 25 g of maple fruits gave 1 g of a substance, which in a dilution of 1:64 destroyed the bacterial virus in 5 min. The substance was given the name *acerin*.

Acerin also destroyed vaccinia virus in 5 min; its effect on the Staphylococcus Twort virus was much less pronounced.

After further purification (Fischer[1]) whereby 100 g of maple fruits yielded 0·75 g, the purified product destroyed the bacterial virus within 5 min in a dilution of 1:50,000, a concentration which allowed an abundant development of the coli organisms. The lowest concentration of acerin which exerted a slight colistatic effect was 1:200. Acerin was active only on the extracellular virus. A good antiviral effect on the virus host cell system was obtained in broth culture and even on solid media.

It was found that the active principle precipitated when increasing amounts of sodium chloride were added to the solution. Its virucidal effect was neutralized when it was exposed to serum diluted 1:2–32. In a concentration of 1:800 it also gave a precipitate with normal serum.

In discussing the possible chemical nature of the active principle in the acerin preparations, we were struck by the similarity in the properties of acerin to those of the vegetable tannins. The general occurrence of tannins in fruits and plant juices also contributed to our supposition that the active principle might be a tannin. It seemed tempting to ascribe the virucidal action of the acerin preparations to a tanning effect on the virus protein. The peculiar denaturation of the protein molecule caused by the tanning substances would provide a satisfactory explanation of the inactivation of the virus. Furthermore, the non-dialyzable tannins cannot reach the inside of the cell wall on the bacteria and would therefore act only on extracellular virus particles, as was the case with the acerin preparations. Moreover, the active principle could be precipitated with sodium chloride as can the tannins. Its neutralization in the presence of serum is also to be expected when serum proteins react with the tanning principle. As found by Fischer, the strongest acerin preparation had a reddish-brown colour, in similarity to tannins, after treatment with alkali and subsequent oxidation in air. They also gave a greenish-brown precipitate with ferric chloride.

The virucidal effect of some vegetable tannins. It was found that several of the vegetable tannins exerted a virucidal action similar to that of the strongest acerin preparations. Eighteen natural tannins were analyzed[2]. In about the same concentration as the purest acerin preparations, 1:25,000, six of them, i.e., commercial tannic acid, Mimosa, ground Canaigre root, powdered Canaigre extract, Quebracho and Babul bark, killed the bacterial virus within 5 min.

Experimental. Both the pure tannic acid and the crude tannin preparations were dissolved in water. Any insoluble residue was removed and the solution dialyzed for 48 h at room temperature against distilled water, the outer liquid being exchanged several times. The content of the bags was then freeze-dried. The dry powder was analyzed for virucidal and bactericidal action as described earlier[3].

[1] While this paper in print, our attention was called to a recent publication in J. Bact. (*66*, 572 1953) by Carson and Frisch about the growth inhibiting action of tannic acid on influenza virus *in ovo*. We were ignorant of this work and of the previous publication from 1948 by Green, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. *67*, 483 (1948).

[2] G. Fischer, *Présence de substances antivirotiques dans différentes parties de plantes*, Ann. Pasteur No. 1480, *82*, 119 (1952).

[3] G. Fischer, *A phagicidal and virucidal agent in maple fruit (acer platanoides L.) preparations–Investigations with E.Coli Bacteriophage and Vaccinia Virus*, Acta Pathol. Microbiol. Scand. *31*, 4 (1952).

[1] G. Fischer, *Further investigations on the virucidal and anti-virotic effect of a maple-fruit preparation–Acerin (Ac_{50}), performed with a coli culture and its bacterial virus*, Acta Pathol. Microbiol. Scand. No. *1381* (1954) (in Korrektur).

[2] We wish to express our thanks to Mr. K. H. Gustavson, Doctor of Technology, of The Research Institute of the Swedish Tanning Industry, Stockholm, for his assistance and valuabel advice, as well as for his kindness in placing all the tannin preparations at our disposal.

[3] G. Fischer, *A phagicidal and virucidal agent in maple fruit (acer plantanoides L.) preparations–Investigations with E. Coli Bacteriophage and Vaccinia Virus*, Acta Pathol. Microbiol. Scand. *31*, 4 (1952); *Further investigations on the virucidal and anti-virotic effect of a maple-fruit preparation–Acerin (Ac_{50}), performed with a coli culture and its bacterial virus*, Acta Pathol. Microbiol. Scand. No. *1381* (1954) (in Korrektur).

Substance	Bacterial virus (Exposed for 5 min)		*E. coli* (Exposed for 5 min)		*E. coli* (Exposed for 3 h)		50% serum	
	Virucidal in conc.	Non-virucidal in conc.	Bactericidal in conc.	Non-bactericidal in conc.	Bactericidal in conc.	Non-bactericidal in conc.	Precip. by conc.	Not precip. by conc.
Acerin	1:25,600	1:51,200		1:100		1:100	1:200	1:400
Mimosa	1:25,600	1:51,200		1:100	1:100	1:200	1:1,600	1:3,200
Myrobalans	1:3,200	1:6,400		1:100		1:100	1:200	1:400
Spruce bark extract (Picea excelsa)	1:6,400	1:12,800		1:100		1:100		1:100
Sumac (Rhus coriaria)	1:6,400	1:12,800		1:100		1:100	1:800	1:1,600
Oak wood extract (Quercus robur)	1:3,200	1:6,400		1:100		1:100	1:100	1:200
Gambier	1:800	1:1,600		1:100		1:100		1:100
Chestnut wood extract (Aesculus)	1:6,400	1:12,800		1:100		1:100	1:100	1:200
Valonia extract	1:1,600	1:3,200		1:100		1:100		1:100
Ground Canaigre root	1:51,200	1:102,400		1:100		1:100	1:800	1:1,600
Quebracho	1:25,600	1:51,200		1:100		1:100	1:800	1:1,600
Sulphited quebracho	1:12,800	1:25,600		1:100		1:100	1:200	1:400
Konnan bark extract (*Cassia Pistula*)	1:1,600	1:3,200		1:100	1:100	1:200	1:400	1:800
Divi Divi extract (*Caesalpina coriaria*)	1:400	1:800		1:100		1:100	1:800	1:1,600
Avaram bark extract (*Cassia Auriculata*)	1:1,600	1:3,200		1:100	1:400	1:800	1:800	1:1,600
Babul bark extract	1:51,200	1:102,400		1:100	1:200	1:400	1:400	1:800
Powdered Canaigre extract	1:25,600	1:51,200		1:100		1:100	1:800	1:1,600
Tannic acid	1:25,600	1:51,200		1:100		1:100	1:800	1:1,600
"Desivon" (Astra)	1:800	1:1,600	1:12,800	1:25,600			1:3,200	1:6,400
Hg Cl_2	1:800	1:1,600	1:12,800	1:25,600			1:400	1:800

Results. As shown in the Table, all the tannins in vestigated had a considerable effect on the bacterial virus. Death occurred after exposure for 5 min to tannins in concentrations between 1:50,000 and 1:400.

On the other hand, none of the tannins had a bactericidal effect on the host cell after exposure for 5 min. With an exposure time of 3 h the great majority of the tannins had no bactericidal effect in a dilution of 1:100, which was the lowest concentration tested.

The tannins thus combined a strong lethal effect on the bacterial virus with a slight bactericidal action, or none at all, on the host cell. In similarity to acerin, a particularly powerful virucidal effect was exhibited by some of the tannins, i.e., Mimosa, ground Canaigre root, powdered Canaigre extract, Quebracho, Babul bark extract and tannic acid.

Discussion. In reviewing the literature on the action of disinfectants and other substances on phage, one of us (G.F.) pointed out that D'Herelle had long since found quinine-containing culture media to have a definite phagicidal effect, ridding the host strain growing on them of its phage. The same goal can apparently be reached with the use of certain vegetable tannins in low concentrations instead of quinine. Consequently, further detailed tests are indicated to ascertain whether or not vegetable tannins can be used to destroy phagal contaminations in bacterial cultures.

It is also interesting to speculate on the extent to which the vegetable tannins are able to exert a protective action against viral infections in the plants, similar to the virucidal effect on the *E. coli* phage demonstrated in the present experiments.

G. Fischer, S. Gardell, and E. Jorpes

Department of Hygiene and the Chemistry Department, Karolinska Institutet, Stockholm, February 23, 1954.

Zusammenfassung

Die viruzide Wirkung von Extrakten aus Ahornsamen auf Coli-Bakteriophagen ist durch Tannine bedingt. Verschiedene Gerbstoffe zeigen einen zum Teil sehr starken virushemmenden Effekt, wobei nur das extrazelluläre Virus angegriffen wird. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Gerbwirkung auf das Protein des Virus.

Die pflanzlichen Gerbstoffe tragen vermutlich dazu bei, die Pflanzensäfte virusfrei zu halten.

Ergebnisse der Flimmer-Elektroretinographie[1]

Das Bestreben, zu Untersuchungsmethoden zu gelangen, die unabhängig von den Angaben oder dem Verhalten des Versuchsobjektes den Reizerfolg aufzuzeichnen gestatten, hat bei der Netzhaut dazu geführt, die auftretenden Aktionspotentiale zu registrieren. Von den hierzu entwickelten Verfahren erlaubt die bei plötzlicher Belichtung bzw. Verdunklung ableitbare Veränderung des korneo-retinalen Ruhepotentials einen Einblick in die retinale Durchschnittsaktivität, während bei Ableitung von Fasern des *Nervus opticus*[2] oder von Retinaganglienzellen[3] das Verhalten einzelner Netzhautelemente studiert werden kann. Da beim Menschen nur die erstgenannte Methode anwendbar ist, konnten hier bisher nur solche Funktionen geprüft werden, die die Erregungen grösserer Teile der Netzhaut wiedergeben. Genauere Untersuchungen des Gesichtsfeldes oder der Sehschärfe gestalten sich daher mit dieser Methode recht schwierig, während sich zum Beispiel der Verlauf der Dunkeladaption sehr wohl darstellen lässt[4]. Trotz dieser Einschränkungen erscheint die Methode des Elektroretinogramms (ERG.) durchaus noch erweiterungsfähig. So lässt sich bei Verwendung intermittierender Lichtreize zeigen, dass die Stäbchen- und Zapfenaktivität der Säugetiernetzhaut sowohl qualitativ (an der Form der auftretenden Aktionspotentiale) als auch quantitativ (durch Bestimmung der Verschmelzungsfrequenz) unterschieden werden kann[5].

[1] Auszug aus der von der Med. Fakultät der Universität Freiburg i. Br. angenommenen Habilitationsschrift.

[2] H. K. Hartline, Amer. J. Physiol. *113*, 59 (1935).

[3] R. Granit, *Sensory Mechanisms of the Retina* (Oxford University Press, New York 1947).

[4] G. Karpe und K. Tansley, J. Physiol. *107*, 272 (1948).

[5] E. Dodt, Nature *168*, 738 (1951). – E. Dodt und L. Wadensten, Acta Ophthalm. *32*, 165 (1954).

Maximale Verschmelzungsfrequenzen im ERG. bei intermittierender Lichtreizung. St. = Stäbchen, Z. Zapfen.

Tierart	Maximale Fusionsfrequenz (Lichtreize/s)	Intensität (Lux)	Adaptationszustand	Autor
Mensch St.	20	4	Helladaptation	Dodt und Wadensten (1954)
Mensch Z.	65–70	200	Helladaptation	
Meerschweinchen St.	30	2000	Helladaptation	Dodt und Wirth (1953)
Meerschweinchen Z.	45–50	8000	Helladaptation	
Gecko St.	20	1300	Helladaptation	Dodt und Heck (1954)
Frosch Z.	48	1500	Helladaptation	Dodt und Heck (1954)
Taube Z.	143	4000	Helladaptation	Dodt und Wirth (1953)
Katze St.	30	100	Helladaptation	Dodt und Enroth (1954)
Katze Z.	70 (83)	2000 (4000)	Helladaptation	
Katze St.	27	1	Dunkeladaptation	Dodt und Heck (1954)

Von 0,2 bis 4 Lux besteht das menschliche Flimmer-ERG. aus einer Folge glatt-wellenförmiger Potentiale («skotopische Komponente des ERG.»[1]), die bei Belichtungsfrequenzen von 11/s bis 20/s verschmelzen. Dagegen zeigen die einzelnen Flimmerpotentiale oberhalb 20 Lux polyphasische Konfiguration und sägezahnähnliches Aussehen («photopische Komponente des ERG.»). Mit diesem Potentialtyp werden – je nach Lichtstärke – Fusionsfrequenzen von 25/s bis 70/s erhalten. Zwischen 5 und 20 Lux sind skotopische und photopische Potentiale nebeneinander nachweisbar, die bei ganz verschiedenen Belichtungsfrequenzen Fusion zeigen. Die über dem Logarithmus der Lichtintensität aufgetragene Verschmelzungsfrequenz (Abb. 2) zeigt den gleichen diskontinuierlichen Kurvenverlauf, der in subjektiv-sinnesphysiologischen Untersuchungen gefunden wurde[2,3]. Zusammen mit den Befunden an pathologisch veränderten menschlichen Netzhäuten ergibt sich dabei eine schöne Gelegenheit, die Richtigkeit der Duplizitätslehre darzulegen: 1. *Totale Farbenblindheit*[7]. Hier findet sich ein normales skotopisches Flimmer-ERG., während photopische Potentialformen vollständig fehlen. Mit Anstieg der Lichtintensität von 0,2 auf 60 Lux nimmt die Fusionsfrequenz zunächst von 11/s auf 18/s zu, weitere Intensitätssteigerung dagegen zeigt einen Abfall derselben, bis schliesslich oberhalb 300 Lux überhaupt kein Flimmerpotential mehr ableitbar ist. Letzterer Befund zeigt an, dass die Stäbchen der menschlichen Netzhaut unter den Bedingungen des reinen Tagessehens nicht am Sehvorgang teilnehmen (womit auch die dem Achromaten eigene Lichtscheu erklärt wird). 2. *Kongenitale Hemeralopie*[8]. Hier zeigt sich gerade das Umgekehrte: Während das skotopische ERG. fehlt, sind bei höheren Lichtstärken photopische Flimmerpotentiale mit hoher Fusionsfrequenz nachweisbar. Für den Gebrauch des ERG. in der Klinik ist fernerhin wichtig, dass aus dem Ausfall des ERG. bei Einzelbelichtung keine Vorhersage über die Aktivität des Zapfenapparates getroffen werden kann (Abb. 1): Bei normaler Antwort auf Einzelbelichtung kann das mittels der Flimmermethode geprüfte photopische Potential völlig fehlen (totale Farbenblindheit), andererseits kann trotz fehlendem Potential auf Einzelreiz die photopische Flimmerantwort durchaus nachweisbar sein (Fall klinischer Netzhautablösung). Schliesslich kann neben fehlendem skotopischem Potential auch das photopische Flimmer-ERG. völlig ausgelöscht sein (Fälle von Retinitis pigmentosa).

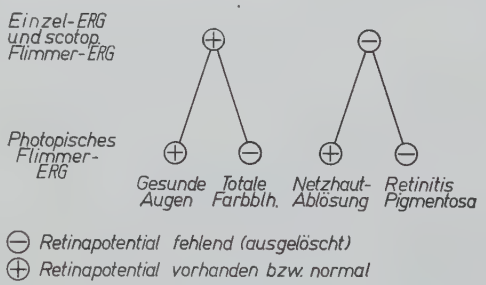


Abb. 1.

Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Wirbeltiernetzhäuten bestätigen die Ansicht, dass eine hohe Fusionsfrequenz stets mit Zapfen-, eine niedere dagegen meist mit Stäbchenaktivität korreliert werden muss. Immerhin zeigt die maximale Verschmelzungsfrequenz bei verschiedener Spezies auch bei gleichem

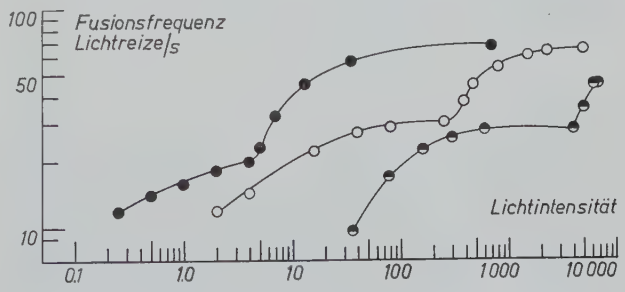


Abb. 2. Graphische Beziehung der Fusionsfrequenz (Lichtreize/s) im ERG. zur Lichtintensität (Lux) für die menschliche Netzhaut (gefüllte Kreise) sowie für jene der Katze (offene Kreise) und jene des Meerschweinchens (halbgefüllte Kreise). Alle Bestimmungen nach medikamentöser Pupillenerweiterung.

[1] E. D. Adrian, J. Physiol. *105*, 24 (1946).

[2] S. Hecht, S. Shlaer und E. L. Smith, Cold Spring Harbor Symp. *3*, 237 (1935).

[3] Bei einer Untersuchung der Frage, inwieweit subjektive und ERG.-Fusionsfrequenz einander entsprechen, fanden Monnier und Babel[4] bei Simultanuntersuchungen in den zentralen Netzhautbezirken stets eine höhere subjektive Verschmelzungsfrequenz. Ihr Befund, dass auch die bei fovealer Reizung abgeleiteten Potentiale dem skotopischen Typ zugehören, während die subjektiven Fusionsfrequenzen auf photopische Funktion hinweisen, zeigt erneut, dass die subjektive Reizschwelle deutlich unter der ERG.-Schwelle liegt[5]. Dagegen lag in den peripheren Bezirken der Netzhaut die subjektive Fusion nur am weniges höher als im ERG., was in Anbetracht der beiden Bestimmungen zugrunde liegenden verschiedenen Kriterien[6] nicht weiter erstaunlich erscheint.

[4] M. Monnier und J. Babel, Helv. Physiol. Acta *10*, 42 (1952).

[5] G. Karpe und K. Tansley, J. Physiol. *107*, 272 (1948).

[6] E. Dodt und Ch. Enroth, Acta Physiol. Scand. *30*, 375 (1954).

[7] E. Dodt und L. Wadensten, Acta Ophthalm. *32*, 165 (1954).

[8] H. Bornschein und G. Schubert, Z. Biol. *106*, 229 (1953).

Rezeptortyp starke Schwankungen (Tabelle). Für die Zapfennetzhäute dürften hierbei wohl Verschiedenheiten der nervösen Struktur eine Rolle spielen. So weicht bei der Taube im Vergleich zur menschlichen Netzhaut die Konvergenz der spezifischen Sehzellen zu den Retinaganglienzellen in der Netzhautperipherie viel weniger von jener in der Fovea ab: Das Verhältnis *äussere Körner: Ggl. optic.* ist in der menschlichen Fovea mit 1,09 nur um weniges grösser als bei der Taube (1,00), während der entsprechende Wert schon 6 mm weiter zur Netzhautperipherie beim Menschen 80, bei der Taube dagegen nur 2,4 beträgt[1]. Die abnorm hohe Verschmelzungsfrequenz bei der Taube ist darüber hinaus von Interesse, da auch das räumliche Auflösungsvermögen einiger Tagvögel jenes des Menschen um das 2–5fache übertrifft[2] und weil die Beziehung der Sehschärfe und der Unterschiedsschwelle zum Logarithmus der Lichtintensität prinzipiell den gleichen Verlauf zeigt wie die Beziehung der Fusionsfrequenz zum Logarithmus der Lichtintensität[3], die der Prüfung mit dem ERG. ohne weiteres zugänglich ist.

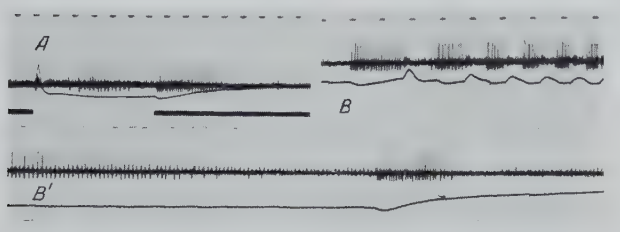


Abb. 3. Ganglienzellenentladung und Elektroretinogramm einer dezerebrierten Katze auf Einzel- (*A*) und Flimmerbelichtung (*B*, *B'*). Die in *A* eingetragene Dauer des Lichtreizes zeigt, dass es sich bei dem durch grosse Spitzenpotentiale ausgezeichneten Retinaelement um eine on-off-Antwort handelt (Impulse bei Beginn = «on» und bei Ende = «off» des Lichtreizes), deren grössere Aktivität bei «off» liegt. Wie die bei Flimmerbelichtung in *B* erkennbare rückläufige Hemmung (die Entladung wird jeweils zu Beginn des nächstfolgenden Lichtreizes gehemmt) zeigt, ist diese off-Anwort bei höheren Flimmerfrequenzen allein für die Lichtrezeption dieses Elementes verantwortlich. Bei Ende der Flimmerbelichtung (rechts in *B'*) ist – wie in *A* – wieder die kräftige off-Entladung zu sehen. Neben der off-Entladung, die in diesem Falle eine deutlich geringere Fusionsfrequenz zeigt als das gleichzeitig registrierte ERG., sind in *B'* kleinere Spitzenpotentiale eines andern (on-)Elements zu sehen, die mit dem ERG. bis zum Ende des Lichtreizes synchron weiterlaufen. Lichtintensität 1500 Lux, Zeitmarken 5 Hz.

Untersucht man, in welchem Masse die einzelne Netzhaut eine gegebene Lichtstärke für ihr Auflösungsvermögen auszunutzen vermag, so zeigt sowohl der Tagesapparat der menschlichen Netzhaut als auch jener der Katze eine maximale Verschmelzungsfrequenz um 70/s, doch wird hierzu beim Menschen nur etwa $^1/_{10}$ der bei der Katze notwendigen Lichtstärke benötigt. Beim Übergang der skotopischen zu den photopischen Flimmerpotentialen verhalten sich die entsprechenden Luxwerte für Mensch, Katze und Meerschweinchen unter helladaptierten Bedingungen etwa wie 1:10:100 (Abb. 2). Vermutlich drückt sich hier das verschiedene Verhältnis der Zapfen- zur Stäbchenzahl aus, das beim Menschen relativ am günstigsten liegt und bei der Katzenretina mit ihrer im Vergleich zum Menschen um $^2/_3$ reduzierten Zapfenzahl immer noch besser ist als beim Meerschweinchen, dessen Netzhaut nur ausserordentlich wenige Zapfen besitzt.

Vergleicht man die Befunde im Falle des Zapfenausfalls bei der totalen Farbenblindheit mit jenen, die an der anatomisch völlig zapfenfreien Netzhaut des Mauergecko gemacht werden können[1], so sieht man in beiden Fällen zwar die für Stäbchenaktivität charakteristische niedere Verschmelzungsfrequenz, doch wird letztere im Falle der menschlichen Achromasie bereits bei 60 Lux erreicht, während beim Gecko hierzu eine Lichtintensität notwendig ist, bei welcher der Stäbchenapparat der gemischten menschlichen Netzhaut auf intermittierende Belichtung nicht mehr reagiert. Auch die Form des einzelnen Flimmerpotentials ist in beiden Fällen verschieden. Während im Falle der Achromasie ausschliesslich skotopische Potentiale erscheinen, sind beim Gecko trotz fehlender Zapfen photopische Flimmerpotentiale mit positiven Verdunklungsschwankungen zu sehen. Somit erlaubt die Potentialform bei Netzhäuten mit nur einem Rezeptortyp lediglich Rückschlüsse auf die Funktion, nicht aber auf die Art ihrer Rezeptoren.

Welches sind die nervösen Mechanismen, die bei intermittierender Belichtung und bei Fusion von Bedeutung sind? Ältere Überlegungen hierzu gingen von der Annahme aus, dass die Dauer der retinalen Latenzzeit einen wesentlichen Faktor für die Höhe der Verschmelzungsfrequenz darstelle. Die höchsten bei der Katze und Taube gemessenen Verschmelzungsfrequenzen könnten indessen niemals erreicht werden, wenn die einzelne Reizperiode (Hell- plus Dunkelphase) der Dauer der retinalen Latenzzeit entspräche, da letztere 15–20 ms nicht überschreitet[2]. Bisher hat sich lediglich für die off-Antworten einzelner Retinaganglienzellen eine Beziehung zwischen Fusion und Latenzzeit ergeben, doch auch hier nur im Zusammenhang mit der Latenzzeit der für die off-Antwort charakteristischen rückläufigen Hemmung[3], während sich für die on-Antworten keine ähnliche Beziehung nachweisen liess. Dagegen ist die Verschmelzungsfrequenz ohne Rücksicht auf Farbe und Stärke der Lichtreize, Adaptationszustand und Typ der Entladung (ob on- oder off-) stets der bei langsamer Flimmerbelichtung gemessenen Frequenz der Spitzenpotentiale der Retinaganglienzellen proportional[3]. Die Fusionsfrequenz wird somit allein von der Intensität bestimmt, mit der die Rezeptoren und Interneuren der Netzhaut die Ganglienzellen des *Nervus opticus* zu erregen vermögen.

Sowohl die retinalen on- als auch off-Entladungen der Katze vermögen den intermittierenden Lichtreizen bis zu Verschmelzungsfrequenzen der gleichen Grössenordnung wie im ERG. zu folgen[4]. Bei Betrachtung der Beziehung der Verschmelzungsfrequenz zur Lichtintensität fällt allerdings auf, dass die Fusionsfrequenz von Element zu Element trotz physikalisch gleicher Belichtung des rezeptiven Feldes ausserordentlich verschieden sein kann (Abb. 3). Da die Verschmelzungsfrequenz sowohl für on- als auch für off- und on-off-Entladungen ohne erkennbare Bevorzugung eines bestimmten Entladungstyps ähnliche Werte zu erreichen vermag, muss für das einzelne Netzhautelement eine ganz individuelle Beziehung zwischen Lichtintensität und Verschmelzungsfrequenz bestehen.

Neben der Abhängigkeit der retinalen Verschmelzungsfrequenz von der Intensität der benutzten Flimmerlichtreize wurde in subjektiv-sinnesphysiologischen

[1] J. H. Chiewitz, Arch. Anat. Entwicklungsgesch. Suppl. 139, (1889).
[2] V. Franz, Handb. vgl. Anat. Wirbelt. *II/2*, 989 (1934).
[3] R. T. Ross, Psychol. Monogr. *47*, 306 (1936).

[1] E. Dodt und J. Heck, Pflügers Arch. *259*, 232 (1954).
[2] E. Dodt und Ch. Enroth, Acta Physiol. Scand. *30*, 375 (1954). – E. Doth und A. Wirth, Acta Physiol. Scand. *30*, 80 (1953).
[3] Ch. Enroth, Acta Physiol. Scand. *27*, Suppl. 100 (1952).
[4] E. Dodt und Ch. Enroth, Acta Physiol. Scand. *30*, 375 (1954).

Experimenten wiederholt ein Zusammenhang zwischen Verschmelzungsfrequenz und Adaptionszustand der Netzhaut beschrieben[1]. Auch bei der elektroretinographischen Untersuchung zeigt sich diese mit zapfenüberschwelligen Lichtreizen während der Dunkeladaptation beobachtete Senkung der Fusionsfrequenz, insofern ein mit der Dauer der Dunkeladaptation sich verlängernder «non-flickering-part» im ERG. nachweisbar ist[2]. Der hierdurch bedingten Senkung der Fusionsfrequenz bei Verwendung zapfenüberschwelliger Lichtreize steht eine Steigerung der Fusionsfrequenz während der Dunkeladaptation gegenüber, sobald man Lichtreize verwendet, die gerade stäbchenüberschwellig sind. Der dabei festzustellende Anstieg der Fusionsfrequenz ist beträchtlich und entspricht grössenordnungsmässig einer Sensitivitätszunahme der Netzhaut in den ersten 20 min um etwa das 100fache.

E. Dodt

Physiologisches Institut der Universität Freiburg i. Br., den 17. Mai 1954.

Summary

Some recent experimental results on retinal flicker and fusion are presented. The use of flicker electroretinography provides an objective and quantitative method of testing rod and cone function independently. The results in human normal and diseased eyes are in full agreement with the duplicity theory of vision. The flicker fusion-intensity relation for man, cat, guinea pig, pigeon, frog, and gecko shows different values for (i) the maximum fusion frequencies within the cone and the rod system, (ii) the intensity level required to produce cone and rod flicker response. Records from single retinal ganglion cells in the cat's eye show fusion frequencies to be related to the initial spike frequency during slow flicker.

[1] M. Schaternikoff, Z. Psychol. Physiol. Sinnesorg. *29*, 241 (1902). – R. J. Lythgoe und K. Tansley, Proc. Roy. Soc. B *105*, 60 (1929).

[2] E. Dodt und J. Heck, Pflügers Arch. *259*, 212 (1954).

Neue Experimente über die Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas*

Um die in dieser Zeitschrift[1] begonnene Diskussion über die optomotorischen Reaktionen fruchtbar fortzusetzen, haben wir Filmaufnahmen von Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas* gemacht.

Dijkgraaf ist der Meinung, dass optomotorische Reaktionen in der Natur nur bei passiver Vertragung zu erwarten wären. Er schreibt: «Optische Reizung infolge der Eigenbewegung löst normalerweise keine solchen Reaktionen aus. Scheinbare Ausnahmen sind immer durch künstliche Eingriffe oder anomale Umstände bedingt.» So erklärt Dijkgraaf die Beobachtungen von Wolter[2] und Tonner[3]. Bei der Versuchsanordnung dieser Autoren reagieren die Tiere nach seiner Meinung auf die passive Drehung, die sie erleiden. Um diese Frage für *Carcinus maenas* zu lösen, haben wir Filmaufnahmen vom freien Lauf und spontaner Drehung des Tieres um die Hochachse gemacht, und zwar bei folgenden Anordnungen:

1. Tier normal, Wände des Aquariums senkrecht schwarz-weiss gestreift;
2. Beide Augenstiele mit schwarzem Lack verklebt;
3. Tier normal, Umgebung völlig homogen, diffuses Licht von oben.

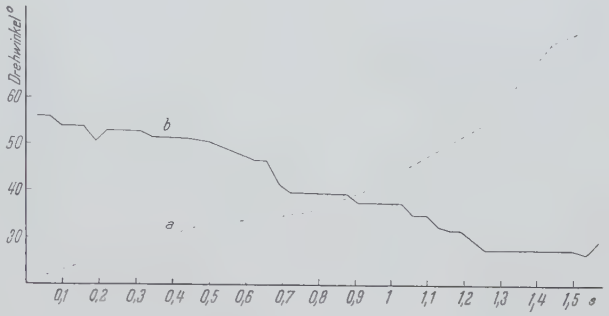


Abb. 1. Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas* in gegliederter Umgebung. *a* ---- Drehung des Tieres um seine Hochachse; *b* —— Bewegungen des rechten Augenstiels. Tier läuft nach links, dreht sich nach rechts, rechter Augenstiel wird nach links bewegt. Ordinate: Drehungswinkel, Abszisse: Zeit in Sekunden.

Carcinus maenas lief in einem Aquarium von 1 m² Bodenfläche und 25 cm hohen Wänden. An einem (oder an beiden) Augenstielen wurde eine feine Borste befestigt, eine weitere Borste am Carapax. Die Filmaufnahmen wurden mit einer Bolex-Schmalfilmkamera 16 mm gemacht, die das Institut für Film und Bild in Göttingen

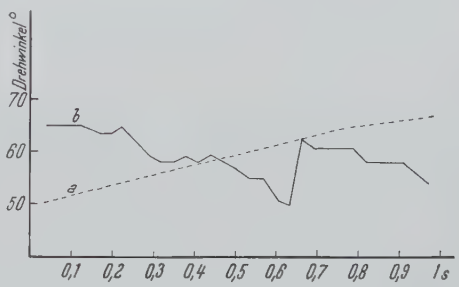


Abb. 2. Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas* in gegliederter Umgebung. *a* ---- Drehung des Tieres um seine Hochachse; *b* —— Drehung des Augenstiels zum Körper. Tier läuft nach rechts, dreht sich nach rechts, rechter Augenstiel bewegt sich langsam nach links, dann kurzer Schlag nach rechts. Ordinate: Drehungswinkel, Abszisse: Zeit in Sekunden.

uns freundlicherweise überlassen hatte. Wir möchten dem Institut auch an dieser Stelle unseren herzlichen Dank aussprechen. Die Filmaufnahmen wurden durch Vergrössern der einzelnen Bilder und Messen des Winkels zwischen der Borste am Augenstiel und der Borste am Carapax ausgewertet.

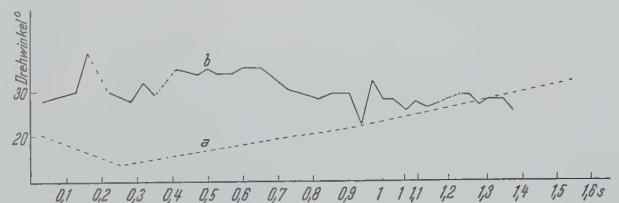


Abb. 3. Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas*, Tier geblendet. *a* ---- Drehung des Tieres um seine Hochachse; *b* ——— bewegung des Augenstiels. –.–.–.– Bilder nicht auswertbar.
Ordinate: Drehungswinkel, Abszisse: Zeit in Sekunden.

[1] W. v. Buddenbrock und Ingrid Moller-Racke, Exper. *8*, 392 (1952); *9*, 191 (1953). – S. Dijkgraad, Exper. *9*, 112 (1953); *9*, 387 (1953).

[2] H. Wolter, Zoolog. Jb. *56*, 581 (1936).

[3] F. Tonner, Z. vgl. Physiol. *25*, 427 (1938).

Unsere früheren Beobachtungen, die wir in dieser Zeitschrift beschrieben haben, wurden durch den Film bestätigt. In einer gegliederten Umgebung (Anordnung 1) drehen sich die Augenstiele von *Carcinus maenas* bei spontaner Drehung des Tieres um seine Hochachse in entgegengesetztem Sinne. In den Abbildungen 1 und 2 haben wir die Messungen von zwei Versuchsserien dieser Anordnung graphisch dargestellt. Gemessen wurde 1. der Drehwinkel des Augenstieles zur Körperachse; 2. die Drehung des Tieres zur Umgebung. Wie Kurve 1*a* zeigt, dreht sich das Tier um 48° nach rechts, dabei wird der rechte Augenstiel (Abb. 1*b*) langsam, in ~ 1,5 s um etwa 28° nach links bewegt. In Abbildung 2*b* wurde die

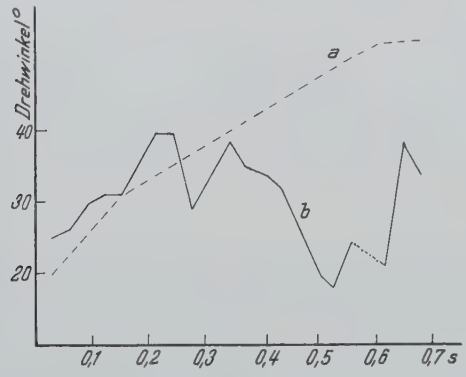


Abb. 4. Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas*, Tier geblendet. *a* ----- Drehung des Tieres um seine Hochachse; *b* ——— Bewegung des rechten Augenstiels. Ordinate: Drehungswinkel. Abszisse: Zeit in Sekunden. –.–.–.–.– Bilder nicht auswertbar.

langsame und schnelle Phase der kompensatorischen Bewegung der Augenstiele erfasst. Das Tier läuft hier nach rechts und dreht sich nach rechts um etwa 17°. Der rechte Augenstiel wird langsam um etwa 15° nach links bewegt (0,64 s), dann kommt ein schneller Rückschlag (~ 0,05 s) nach rechts und wieder eine langsame Bewegung nach links. In 20 ausgewerteten Versuchsserien waren in allen Fällen kompensatorische Augenstielbewegungen dieser Art zu beobachten.

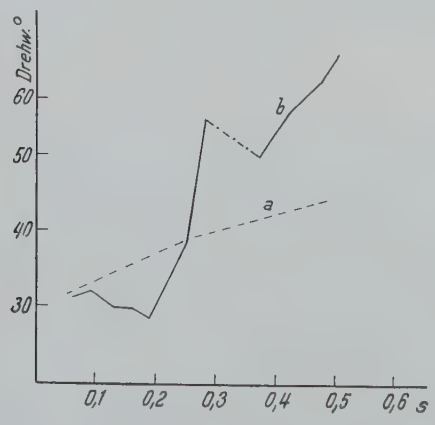


Abb. 5. Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas* in diffus beleuchteter Umgebung. *a* ----- Drehung des Tieres um seine Hochachse; *b* ——— Bewegung des Augenstieles. –.–.– Bilder nicht auswertbar. Ordinate: Drehungswinkel, Abszisse: Zeit in Sekunden.

In den weiteren Versuchen sollte nun die Frage geklärt werden, ob diese Augenstielbewegungen optisch ausgelöst werden. Waren beide Augen verklebt (Anordnung 2), so wurde der Augenstiel zwar teilweise wieder kompensatorisch bewegt, aber in schwächerem Masse und häufig unterbrochen von unregelmässigen Spontanbewegungen (Abb. 3 und 4). Diese unregelmässigen Spontanbewegungen liessen befürchten, dass der Lack, der zur Verklebung der Augen diente, die Reaktion des Tieres störte. Um diesen Einfluss auszuschalten, wurden in der dritten Anordnung die Tiere in völlig homogener Umgebung und bei diffusem Licht, aber ungeblendet beobachtet. Die Abbildungen 5 und 6 zeigen das Verhalten dieser Tiere. In fast noch deutlicherem Masse als im vorhergehenden Versuch zeigt sich, dass die kompensatorischen Augenstielreaktionen bei Ausschaltung des optischen Reizes nur unregelmässig auftreten. In einigen Fällen wurden sogar die Augenstiele mit der Drehung des Körpers bewegt (Abb. 5).

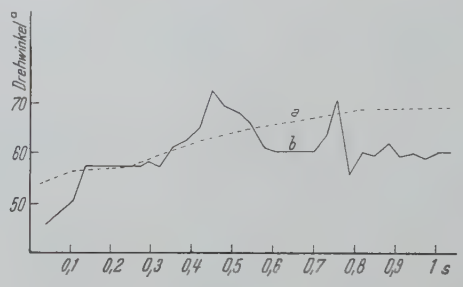


Abb. 6. Augenstielbewegungen von *Carcinus maenas*, in diffus beleuchteter Umgebung. *a* ----- Drehung des Tieres um seine Hochachse; *b* ——— Bewegung des rechten Augenstiels. Ordinate: Drehungswinkel, Abszisse: Zeit in Sekunden.

Überblickt man die Augenstielbewegungen des normalen Tieres bei schwarz-weiss-gestreifter Umgebung und vergleicht diese mit den Bewegungen bei verklebten Augen oder in völlig homogener Umgebung, so ist deutlich ein Unterschied zu sehen. Hieraus folgt, dass eine optische Komponente, bestehend aus den Reaktionen des Tieres auf die bei seinen Eigenbewegungen auftretenden retinalen Bildverschiebungen, bei *Carcinus* existiert. Andererseits ergibt sich zum Beispiel aus den Kurven 5 und 6, dass ein Rest der kompensatorischen Bewegungen auch nach Blendung bzw. in homogener Umgebung bestehenbleibt. Ob derselbe auf einer intrazentralen Regulierung im Sinne Dijkgraafs beruht oder auf einer Erregung der Statocysten oder auf Strömungsreize müssen zukünftige Untersuchungen lehren.

W. v. Buddenbrock,
I. Moller-Racke und
F. Schaller

Zoologisches Institut der Universität Mainz, den 3. April 1954.

Summary

Carcinus maenas was filmed in normal active movement. When turning actively, *carcinus maenas* showed optomotoric reactions. The reactions were irregular when carcinus maenas was blinded or when the environment was homogenous.

Antituberculosis Activity of Vinactane

Introduction. In previous report[1], a description was given of a new antibiotic produced by a hitherto unknown species of actinomyces, *Streptomyces vinaceus*. This antibiotic substance, referred to as Vinactane, possesses antibacterial as well as pronounced antituberculosis activity in experimental infections. It was subsequently found that Vinactane was identical to the later discovered viomycin[2].

Vinactane is a strongly basic polypeptide; the empirical formula for the free base is $C_{17-18}H_{31-35}N_9O_8$. Hydrolysis experiments have suggested that Vinactane is a peptide possibly of cyclic nature. It is recovered during the isolation process as a hydrochloride[3]. It is readily soluble in water. At pH 2·0 to 7·0 it is very stable in aqueous solutions held at room temperature for prolonged periods and can be heated for 10 min at 100°C without loss of antibiotic activity.

Table I
Bacteriostatic Activity of Vinactane Sulfate

Test Organism	Smallest concentration completely inhibiting growth (γ/ml)	
	Vinactane	Streptomycin
Staph. aureus	65	4
Staph. aureus (resistant to streptomycin)	100	2000
Strep. pyogenes	16	10
Bacillus subtilis	16	200
Bacillus anthracis	24	200
Diplo. pneumoniae	>200	2
E. coli	75	20
Kleb. pneumoniae	23	2
Pseud. aeruginosa	375	50
Salm. schottmuelleri	185	100
Shig. paradysenteriae	185	10
Br. abortus	31	50
Myco. tuberc. hominis (H37Rv)	0·6	0·6

Not only has considerable chemical work on Vinactane[3] suggested that this antibiotic is identical with viomycin, but bacterial spectra studies have confirmed this view. Furthermore, cross-resistance experiments have shown that a strain of *Staph. aureus* made resistant to either antibiotic was equally resistant to both substances.

Experimental. In vitro Activity of Vinactane Sulfate. The bacteriostatic endpoints obtained with a variety of test organisms, including several species of mycobacteria, are shown in Table 1. The method used consisted of preparing varying dilutions of the antibiotic in suitable liquid media and determining the highest dilution capable of completely inhibiting the growth of the organisms. For comparative purposes, streptomycin was similarly tested.

From the results of the *in vitro* tests, it is apparent that Vinactane is particularly active against the mycobacteria, moderately active against the usual Gram-positive organisms, and of lesser activity against a variety of Gram-negative bacteria. Although it possesses a range of activity similar to that of streptomycin, Vinactane is capable of inhibiting the growth of streptomycin-resistant strains of *Staph. aureus* and H37Rv to the same degree as demonstrated with the parent, sensitive strains. Similarly, PAS and isoniazid-resistant strains of the H37Rv culture were sensitive to the action of Vinactane.

Toxicity of Vinactane.—A dose of 1000 mg/kg, administered subcutaneously, once daily for 21 consecutive days, was well tolerated by mice and was without apparent toxic effects. Guinea pigs inoculated intramuscularly with daily doses of 20 mg/kg for 60 consecutive days demonstrated no ill effects. The approximate subcutaneous, intraperitoneal and intravenous acute LD_{50} values for mice are 35, 25, and 4 mg/kg respectively.

Chemotherapeutic Activity in Tuberculous Mice.—a) *Graded-dose experiment:* CFl mice, weighing between 15 and 20 g each, were infected intravenously with 0·5 ml of a 1:10 dilution of H37Rv grown for 7 days in KIRCHNER's liquid medium containing 0·03% Triton A-20 and 0·2% bovine serum albumin. Treatment with Vinactane sulfate was started immediately after infection with varying levels of the antibiotic administered subcutaneously, and therapy was continued for 21 consecutive days. Surviving animals were sacrificed on the 32nd day after infection. Two criteria were used for the evaluation of activity: percent survival on the 32nd day and the T50 value which represents the calculated survival time (days) of 50% of the mice, obtained by plotting the cumulative percentage dead on a probability scale against time on an arithmetic scale[1]. The results of this experiment, shown in Table 2, indicate that Vinactane sulfate, at doses greater than 0·5 mg and administered daily for 21 days, is capable of exerting a significant degree of antituberculosis activity. Streptomycin however, on a dosage basis proved more effective than Vinactane. HOBBY and co-workers[2] found that doses of 0·5 mg or more of viomycin daily were sufficient to increase significantly the average survival time and the percentage survival of infected animals.

Table II
Antituberculosis Activity in Mice of Vinactane Sulfate Administered Subcutaneously at Varying Dose Levels

Antibiotic	Daily Dose (mg)	% Survivors	T50 Value (days)
Vinactane Sulfate	2·0	100	> 32·0
	1·0	80	> 32·0
	0·5	10	22·0
Streptomycin Sulfate	2·0	100	> 32·0
	1·0	100	> 32·0
	0·5	90	> 32·0
Controls (no treatment)	–	0	17·0

(b) *Effect of delayed therapy.* In this experiment, the administration of the antibiotic was delayed for 0, 3, 6, 9, 12, and 15 days after infection or treatment main-

[1] P. C. EISMAN, W. S. MARSH, and R. I. MAYER, Science *103*, 673 (1946). – R. L. MAYER, C. CRANE, C. J. DEBOER, E. A. KONOPKA, W. S. MARSH, and P. C. EISMAN, Tr. XIIth Intern. Congr. Pure Appl. Chem., New York City, Sept. 10–14, 1951, p. 283. – R. W. TOWNLEY, R. P. MULL, and C. R. SCHOLZ, Tr. XIIth Intern. Congr. Pure Appl. Chem., New York City, Sept. 10–14, 1951, p. 284.

[2] Q. R. BARTZ, J. EHRLICH, J. D. MOLD, M. A. PENNER, and R. M. SMITH, Amer. Rev. Tuberc. *63*, 4 (1951). – G. L. HOBBY, T. F. LENERT, M. DONIKIAN, and D. PIKULA, Amer. Rev. Tuberc. *63*, 17 (1951).

[3] R. A. LUCAS, J. L. MARSH, R. P. MULL, C. R. SCHOLZ, and R. W. TOWNLEY (in press).

[1] R. DONOVICK, C. M. MCKEE, W. P. JAMBOR, and G. RAKE, Amer. Rev. Tuberc. *60*, 109 (1949).

[2] G. L. HOBBY, T. F. LENERT, M. DONIKIAN, and D. PIKULA, Amer. Rev. Tuberc. *63*, 17 (1951).

Table III

Antituberculosis Activity in Guinea Pigs of Vinactane Sulfate at Varying Dose Levels.
Treatment Started: 28th day, post-infection. *Duration of Treatment:* 60 days.

Dose Vinactane Administered	Number of Animals	Average Gross Involvement				Average Total Involvement
		Spleen	Lungs	Liver	Site of Inoculation	
10·0 mg	11	10·0	6·4	7·7	3·6	27·7
5·0 mg	15	6·3	10·0	6·7	4·7	27·7
2·0 mg	12	18·8	10·8	18·8	8·3	56·7
Pretreatment Controls*	5	26·0	10·0	16·0	10·0	62·0
Untreated Controls (88th day)	13	19·2	20·8	23·5	10·0	73·5

* The pre-treatment controls were sacrificed at the commencement of therapy (28th day, post-infection) in order to establish the extent of tuberculous involvement.

tained for 21 consecutive days. In the 38th day, post-infection, all surviving mice were sacrificed. According to the results obtained, therapy with 1·0 mg Vinactane can be delayed for nine days after infection and yet exert a strong antituberculosis activity. At the 0·5 mg dose level, treatment with the antibiotic can be delayed for two days beyond the time of infection and still yield excellent activity.

Chemotherapeutic Activity in Tuberculous Guinea Pigs. Female guinea pigs, approximately 500 g in weight, were infected subcutaneously in the groin with 1·0 ml amounts of a 1:50 dilution of a 7-day old culture of H37Rv. Twentyseven days after receiving the infecting dose, the animals were tuberculin tested (intracutaneous injection of 0·1 ml of 1% "O.T.") and all responded with a strong positive reaction. Groups of 12 animals each were, on the 28th day following infection, treated with 10·0, 5·0 and 2·0 mg Vinactane sulfate, administered intramuscularly once daily for 60 days. The normal animal diet was supplemented with greens and ascorbic acid, the latter added to the drinking water (0·5 mg/ml) on alternate days. On the last day of therapy (88th day, post-infection) all animals were sacrificed. The gross organ involvement was determined according to the method described by Feldman and Karlson[1]. Maximal values of 40, 70, and 100 respectively were assigned to animals with slight, moderate, and extensive degrees of total organ involvement. The results of this experiment are shown in Table 3 and indicate that Vinactane is capable of exerting appreciable anti-tuberculosis activity in guinea pigs at doses of 2·0 mg per day.

R. L. Mayer, P. C. Eisman, and
E. A. Konopka

Research Department, Ciba Pharmaceutical Products, Inc., Summit, New Jersey, May 6, 1954.

Zusammenfassung

Vinactan, eine antibiotische Substanz, isoliert von *Streptomyces vinaceus*, besitzt bedeutende antituberkulöse Aktivität in infizierten Mäusen und Meerschweinchen. Erheblicher Schutzeffekt in tuberkulösen Mäusen wurde beobachtet, wenn die Therapie nicht sofort, sondern erst 9 Tage nach der Infektion einsetzte und die Behandlung mit 1 mg täglich während 21 Tagen durchgeführt wurde. In tuberkulösen Meerschweinchen, die mit 5 mg Vinactan täglich subkutan während 60 Tagen behandelt wurden, war die Entwicklung tuberkulöser Infektion in Milz, Lunge und Leber erheblich vermindert.

[1] A. G. Karlson and W. H. Feldman, Ann. N. Y. Acad. Sci. *52*, 637 (1949). – W. H. Feldman, Amer. Rev. Tuberc. *48*, 248 (1943).

Occurrence of an Enzyme Acting on Xanthopterin-B in *Bombyx mori*

A pterin like pigment, xanthopterin-B (the suffix "B" coming from *Bombyx*)[1] is found in the integument of larvae of the mutant, "lemon" (*lem*)[2] and "yellow lethal" (lem^l)[3], of the silkworm, characterized by the yellow colour of their skin. It is also found in the wings of the yellow butterflies, *Eurema* and *Colias*. Both in chemical properties and biological activity, xanthopterin-B has a similarity to xanthopterin and to folic acid[4]. However, xanthopterin-B has not been isolated in a pure form for the determination of its structural formula. It shows a strong yellow fluorescence and like folic acid is very unstable to light, especially in acid solution. The relation between xanthopterin-B, uric acid and melanin in the skin of several mutants of the silkworm has been studied from the stand-point of biochemical genetics[5].

Using 5% sodium citrate as a solvent, xanthopterin-B in the tissue extract of the *lem* larvae separated into two components on a paper chromatogram. We designated the two components as xanthopterin-B_1 (*Rf* value, 0·27) and xanthopterin-B_2 (*Rf* value, 0·32)[4]. The two spots, however, overlapped when a common solvent such as butanol-acetic acid-water (4:1:1) was used (*Rf* value, 0·45). Aside from sodium citrate the following solvents were also useful for differentiating the two components: sodium acetate, sodium chloride, ammonium chloride and urea (all 5% solutions). Both xanthopterin-B_1 and -B_2 show yellow fluorescence, but the former fluorescents much more strongly and is also more unstable toward some chemical treatments. In the integument of the *lem* larva four pterins or pterin like pigments, leucopterin, leucopterin-B ("isofluorescyanine [fluorescyanine B]"[6], or probably identical with isoxanthopteria[7])

[1] Y. Hirata, K. Nakanishi, and H. Kikkwa, Bull. Chem. Soc. Japan *23*, 76 (1950).

[2] T. Hama, Y. Maki, and H. Aruga, Zool. Mag. *58*, 219 (1949). – K. Nakanishi, Y. Hirata, and H. Kikkwa, Jap. J. Genetics *25*, 78 (1950).

[3] Y. Umeya and M. Tsujita, Bull. Sericult. Exptl. Station *13*, 329 (1951).

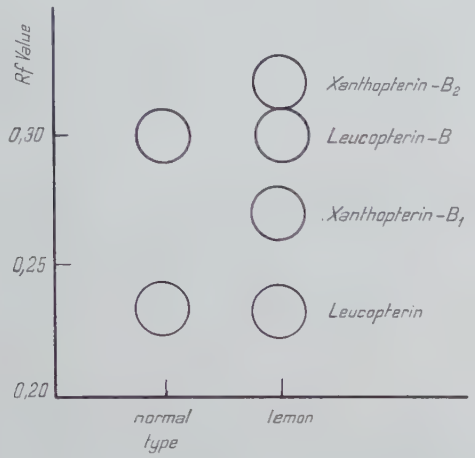
[4] H. Aruga and N. Yoshitake, unpublished.

[5] H. Aruga, N. Yoshitake, and R. Ishihara, J. Sericult. Sci. Japan *22*, 1 (1953).

[6] M. Polonovski, C. Alcantara, and R. G. Busnel, C. r. Acad. Sci. *235*, 1703 (1952).

[7] Y. Hirata and S. Nawa, C. r. Soc. Biol. *145*, 661 (1951).

xanthopterin-B_1 and -B_2 can be differentiated[1]. In the normal (wild type) larva, there exist only two pterins, leucopterin and leucopterin-B (Figure). The content of leucopterin-B in the *lem* mutant is less than in the wild type. These facts led us to carry out some experiments on the metabolism of pterin like pigments in the mutants of the silkworm. During the course of these experiments, we observed the disappearance of the fluorescence of xanthopterin-B_1 when the latter was incubated with tissue extracts from wild type larvae. As shown below an enzyme (or enzymes) appears to be responsible for this change.



Paper chromatogram of the extract of the integument of the silkworm. solvent; 5 % sodium citrate. *Rf* value and colour of fluorescence: xanthopterin-B_2; 0·32 (yellow); leucopterin-B, 0·30 (purple); xanthopterin-B_1 0·27 (yellow); leucopterin, 0·23 (pale blue).

Since not enough pure xanthopterin-B_1 was available for investigating the enzymatic reaction, in most cases we used the heated extract of the skin of the *lem* larva as a substrate. 200 mg of aceton dried, defatted and hot alcohol denatured powder of the skin of the *lem* larvae (5th instar) was ground with 5 ml water and the mixture was heated for 10 min at 80–90°C. The cooled extract was centrifuged and the yellow supernatant was used as a substrate. To avoid the effect of light all procedures were carried out in the dark room under a red lamp. The enzyme solution was prepared as follows: the skin of a normal larva (5th instar) freed from internal organs and adipose tissues was washed with water and weighed after removing excess water with filter paper. The minced skin was homogenized with ten volumes of M/15-phosphate buffer (pH 7·2). The mixture was left standing for 15 min and then centrifuged. The supernatant was used as an enzyme preparation. The skin extract of the *lem* larva was also prepared in the same way. In order to compare the enzymatic activity of the normal and *lem* larvae, the following mixtures with a few drops of toluol were incubated in the dark for 3 h at 30°C: (1) 0·5 ml normal extract + 0·5 ml substrate solution + 0·5 ml water, (2) 0·5 ml heated normal extract (80°C 5 min) + 0·5 ml substrate solution + 0·5 ml water, (3) 0·5 ml normal extract + 0·5 ml substrate solution + 0·5 ml *lem* extract, (4) 0·5 ml heated normal extract + 0·5 ml substrate solution + 0·5 ml *lem* extract. For control, mixtures of 0·5 ml phosphate buffer, 0·5 ml substrate solution and 0·5 ml *lem* extract or water were also incubated. At the end of the incubation each mixture was analyzed directly by paper chromatography (5 % sodium citrate or acetate as a solvent). Under the above conditions, it was observed that after incubation the yellow fluorescent spot of xanthopterin-B_1 had disappeared in cases (1) and (3). The spots of xanthopterin-B_2 and other pterins were intact in all cases. The same results were obtained using the reextracted solution of xanthopterin-B_1. Although the yellow colour of the mixtures (1) and (3) decreased with the disappearance of fluorescence of xanthopterin-B_1, it could not be decided whether the yellow colour of the crude mixtures was exactly proportional to the concentration of xanthopterin-B_1 present.

[1] One more fluorescent substance is found in the integument of the *lem* larva by using two dimensional paper chromatography. With the one dimensional method the spot for this substance probably overlaps with that of leucopterin-B [H. Aruga and N. Yoshitake, unpublished).

Table I

Distribution of the enzyme in the several tissues of the silkworm

		Normal ($+^{lem}$)	Lemon (lem)
5th instar	Integument (cuticle	−	−
	Integument (epidermis	+	±
	Adipose tissue	+	±
	Body fluid	−	−
	Ovary	±	−
	Testis	±	−
pupa	Adipose tissue	+	±
	Body fluid	+	±
	Ovarian Tube	+	±
	Testis	±	±
Egg (diapause)		+	±

The pH optimum of the enzyme lies in the range of 6–8 (phosphate buffer) and the activity is mostly destroyed by heating at 60°C for 5 min. It is inhibited by potassium cyanide and monoiodoacetate (final concentration, *M*/100) but not by sodium fluoride or hydroxylamine. A carefully prepared aceton powder of the skin retains its original activity.

Table II

Distribution of the enzyme and xanthopterin-B in the integument of several mutants of the silkworm.

Strain	Remark	Accumulation of xanthopterin B	Occurrence of the enzyme
p^{s}*	White part	−	+
	Black pigmented (melanin) part	−	+
p^{s}lem	Yellow part	+	±
	Black pigmented (melanin) part	±	±
od	Translucent	−	+
odlem	Translucent yellow	±	±
lem	Yellow skin colour	+	±

* *p* (Striped) is characterized by the black melanin bands in each segment.

Tables I and II show the distribution of the enzyme in the several tissues and mutants of the silkworm. The activity was clearly observed in the epidermis and adipose tissues of normal larvae and also in the normal eggs and pupae, but could not be found in the body fluid of normal larvae. Little or no activity could be found in several tissues of the yellow mutant examined. It should

be noticed in Table 2 that as long as the *lem* gene is present in homozygous, the enzyme activity is very low. However, the lack of xanthopterin-B does not necessarily indicate the presence of the enzyme, since, for instance, in the mutants "Striped" marking (p^s) and "od-translucent" (*od*), these genes have also an effect of suppressing the accumulation of xanthopterin-B[1].

H. Aruga, S. Kawase, and M. Akino

Sericultural Laboratory, Faculty of Agriculture, Tokyo University and Department of Biology, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University, Tokyo, Japan, January 23, 1954.

Résumé

Nous avons démontré qualitativement chez le *Bombyx mori*, l'existence d'un ferment qui attaque la xanthoptérine-B, une substance fluorescente du type ptérinique qui se trouve dans les intéguments des larves de race jaune «lemon», et se transforme en une substance non-fluorescente. Le ferment se trouve dans les épidermes, tissus adipeux des larves et dans les œufs et cocons des *Bombyx* de type normal. Chez les mutants de la race jaune, l'activité du ferment est faible ou nulle dans bien des tissus. Cependant on ne peut pas nécessairement dire que la présence de ce ferment conduit à l'absence de la xanthoptérine-B, parce que l'accumulation de xanthoptérine-B est supprimée par l'action d'autres gènes chez les mutants «Striped marking» (p^s) ou «od-translucent» (*od*). Dans ces derniers l'activité du ferment est en effet très faible.

[1] H. Aruga, N. Yoshitake, and S. Ishikawa, J. Sericult. Sci. Japan *20*, 399 (1951).

Concerning the Biogenesis of Lysergic Acid

Recently van Tamelen[1] has proposed a biogenetic route to lysergic acid (VI, $R = CH_3$) having its origin in the coupling of a dihydronicotinic acid (or derivative) with a quinone imine derived from 5-hydroxytryptophan.

[1] E. E. van Tamelen, Exper. *9*, 457 (1953).

The present writer would like to suggest the relatively simple and direct biogenetic pathway to lysergic acid involving the condensation of tryptophan (I) with citric acid (III).

The transformation of IV → V by dehydration with accompanying loss of carbon dioxide is based on extensive precedent, e.g., the conversion of citric to itaconic acid[1] and the formation of desmethylaxerophthene in the synthesis of vitamin A acid[2].

N. L. Wendler

Merck & Co., Inc., Rahway, N.J., February 13, 1954.

Zusammenfassung

Ein biogenetischer Weg zur Lysergsäure, bestehend in der Kondensation von Tryptophan mit Zitronensäure, wird vorgeschlagen.

[1] R. Anschütz, Ber. dtsch. chem. Ges. *13*, 1542 (1880).
[2] N. L. Wendler, H. L. Slates, N. R. Trenner and M. Tishler, J. Amer. chem. Soc. *73*, 719 (1951).

Oestrus Activity in Fat-Tailed Sheep During the Longest Days

The importance of day-length as a controlling environmental factor has been shown in poultry[1], old-world birds[2], and in a variety of mammals. Farm animals could be classified in this respect into three classes, those which are short-day breeders, such as sheep[3] and goats[4]; those which are long-day breeders, such as poultry, including pheasants[5]; and those which are not particularly responsive to daylight environment, such as rabbits. The conventional view of photoreception is that light received by the eye starts an unknown

[1] E. O. Whetham, J. Agric. Sci. *23*, 383 (1933).
[2] J. R. Baker, Tabul. Biol. Berl. *15*, 333 (1938).
[3] E. S. E. Hafez, J. Agric. Sci. *42*, 189 (1952).
[4] T. H. Bisonnette, Physiol. Zool. *14*, 379 (1941).
[5] T. H. Bissonnette and A. G. Czech, J. Wildlife Management *5*, 383 (1941).

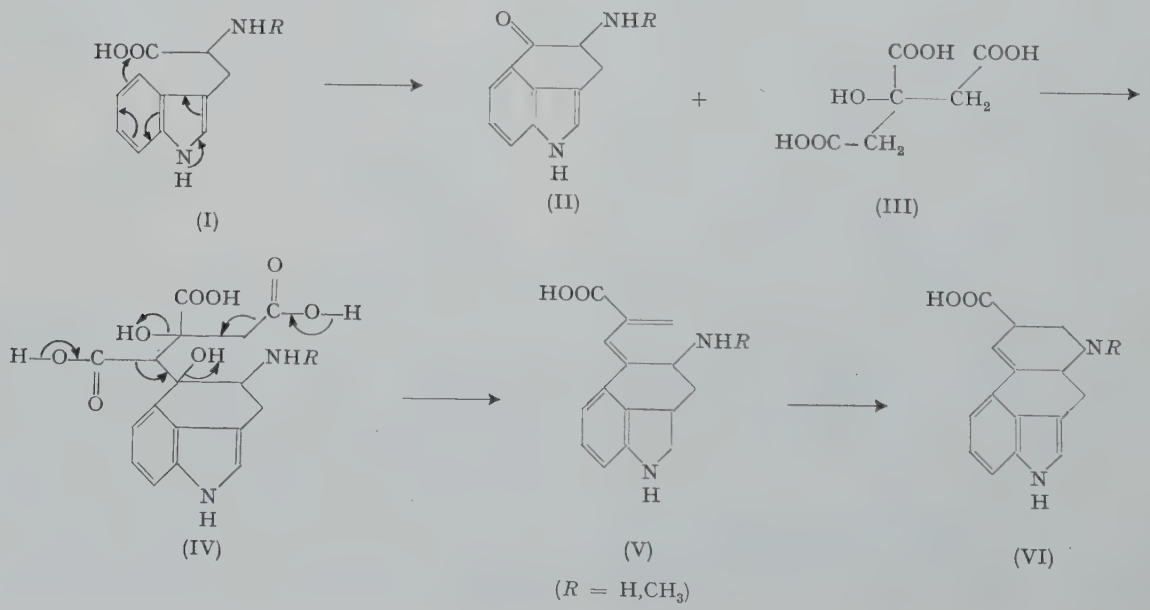


Table I.–Breeds of sheep showing oestrus during the longest days (June in N. hemisphere and December in S. hemisphere).

Breed	Locality	Latitude	Authority
Bikaneri	Punjab, India	30° N.	Smith and Hussein[1]
Blackhead Persian	South Africa	20–35° S.	Labuscagne[2]
Blackhead Persian	Trinidad	11° N.	Meturer[3]
Fine woolled	Madras, India	11° N.	Khot and Ramchandran[4]
Indian (grade)	Los Banos, Philippines	5–18° N.	Villegas[5]
Karakul	Turkestan, U.S.S.R.	40° N.	Frolich[6]
Mandya	Maysore, South India	12° N.	Rao[7]
Merino	McMaster Field, Australia	34° S.	Kelley and Shaw[8]
Merino	Kenya, Africa	Equator	Anderson[9]
Merino	Cape Karoo, South Africa	25–35° S.	Quinlan and Mare[10]
Persian Blackface	British Guiana, South America	5° N.	Kadgien[11]
Ronderib	Ermelo, South Africa	26° S.	Roux[12]

[1] L. W. Smith, M. Hussein, Agric. Live-Stk. India *8*, 126 (1935).
[2] F. J. Labuscagne, Fmg. S. Africa *23*, 77 (1948).
[3] D. Meturer, Personal communication (1953).
[4] S. S. Khot and K. N. Ramchandran, Indian Fmg. *9*, 63 (1948).
[5] V. Villegas, Philippine Agric. *17*, 477 (1928).
[6] G. Frolich, *Das Karakulschaf und seine Zucht* (Munich, 1931).
[7] M. V. K. Rao, Indian Vet. J. *21*, 414 (1945).
[8] R. B. Kelley and H. E. B. Shaw, Bull. Coun. Sci. Industr. Res. Aust. No. *166* (1943).
[9] J. Anderson, Personal communication (1952).
[10] J. Quinlan and G. Mare', *17th* Rep. Dir. Vet. Ser. Anim. Ind. S. Afr. *1931*, 663.
[11] G. Kadgien, Dtsch. landw. Tierz. *38*, 393 (1934).
[12] L. L. Roux, Onderstepoort J. Vet. Sci. *6*, 465 (1936).

sequence of events terminating in the stimulation of the adenohypophysis which in turn regulates the reproductive phenomena. Harris[1] has suggested that one link in the chain of events between the light stimulus and gonadal reaction may be affected by the hypophyseal portal vessels, and that the nervous system regulates the activity of the adenohypophysis by means of a humoral relay through these vessels.

The length of the sexual (breeding) season is related to the geographical origin (latitude and altitude) of the breed (Hafez[2]). In England, the sexual season of Suffolks is fairly evenly spaced about the shortest days when the day-length is 11·5 h or less (Hammond Jr.[3]). The breeds which manifest oestrus throughout the year, even during the longest days are located at low latitudes extending from 35° N to 35° S (Table I).

The present experiment was an attempt to investigate the frequency of oestrus activity of Egyptian fat-tailed sheep during the longest days in Cairo (30° N).

Materials and Methods. One hundred and nine Egyptian fat-tailed ewes (Ossimi and Rahmani breeds) and six rams were available at the *Animal Breeding Research Farm, Cairo, Egypt.* The animals were joined with ochred aproned rams during May (longest days of the year). During June and July, the Ossimi ewes were joined with ochred fertile rams. Oestrus and mating were observed twice daily.

Results and Discussion. The ewes experienced oestrus after a period ranging from 1 to 79 days. The maximum number of ewes exhibiting oestrus was on the 3rd and 4th week from the date of joining the rams (Table II). From the 6th to the 12th week, only 5% of all the oestrus ewes came on heat. There was no significant difference between the two breeds in the rate of coming into oestrus. They required from one to three services with an average of 1·2 services.

Certain ewes, after showing oestrus, experienced silent heats (ovulation without oestrus). In 6 Ossimi ewes and 8 Rhamani ewes, one silent heat was recorded, the length of the oestrous cycle ranged from 26 to 36 days. In one Ossimi ewe and one Rahmani, two successive silent heats were recorded, the cycle length was some 37 days. 14% of the Ossimi ewes and 13% of the Rahmani ewes were anoestrous during the months of observations (May, June, and July).

Table II.–Sexual performance in fat-tailed ewes during the longest days (May to July) in Cairo (30° N.).

	Actual		% of total	
Breed	O.	R.	O.	R.
Total No. of ewes	63	46	100	100
On heat on 1st weak	13	6	21	13
On heat on 2nd weak	8	3	13	7
On heat on 3rd weak	17	13	27	28
On heat on 4th weak	10	12	16	26
On heat on 5th weak	4	3	7	7
On heat on 6th weak	2	1	3	2
On heat on 7th weak	0	0	0	0
On heat on 8th weak	0	0	0	0
On heat on 9th weak	0	0	0	0
On heat on 10th weak	0	0	0	0
On heat on 11th weak	0	0	0	1
On heat on 12th weak	0	0	0	2
Anoestrus for 12 weeks	9	6	14	13

O. = Ossimi R. = Rahmani

The two breeds of fat-tailed sheep experience oestrus during the longest days. This shows that they do not show a limited breeding season at this latitude. This view is confirmed by the results of Mounib[1] who used the Rahmani breed (the same breed used in this experiment) reared in Alexandria. This is mainly due to the

[1] G. W. Harris, Physiol. Rev. *28*, 139 (1948).
[2] E. S. E. Hafez, Nature *167*, 777 (1951).
[3] J. Hammond Jun., J. Agric. Sci. *34*, 97 (1944).

[1] M. Mounib, personal communication (1953).

small fluctuation in day-length in this subtropical zone. However, it seems that there is some sort of fluctuation in the percentage of the ewes showing oestrus throughout the year. Such phenomenon may be attributed to other environmental factors, such as the atmospheric temperature, feeding conditions and management. It is well established that oestrus activity is controlled by the gonadotrophic hormones secreted by the adenohypophysis. The pituitary activity undergoes seasonal changes during the breeding season as shown by histological evidence (Warbritton and McKenzie[1]).

Silent heat is manifested in certain individuals and not in others. There is a possible correlation between the frequency of silent heats and the number of services per conception. Hafez[2] has shown that silent heat occurs more frequently in mountain breeds than in other breeds and in ewe lambs more than in adults. Parkes and Hammond[3] have suggested that silent heat is associated with temporary insufficiency of gonadotrophic and follicular hormones. In cattle, the lowest incidence of silent heat is associated with the excess of sunshine and daylight which normally occurs in May (Hoelzer[4]).

It is therefore recommended that culling ewes according to oestrous performance should be carried out during the longest days, the critical period for manifestation of oestrus. It is concluded that fat-tailed sheep experience oestrus activity during the longest days in the subtropical zone. A small percentage, however, remains anoestrous, probably due to severe climatic conditions. Meanwhile, the season of the oestrus activity does not necessarily coincide with the season of oögenesis, the former being shorter than the latter.

E. S. E. Hafez

Faculty of Agriculture, University of Cairo, December 17, 1953.

Zusammenfassung

Ägyptische Schafe zeigten Zeichen von Brunst während der längsten Tage des Jahres (Mai bis Juli) in Kairo. Ein kleiner Prozentsatz zeigte keine Anzeichen von Brunst, wahrscheinlich infolge der schwierigen klimatischen Bedingungen. Eine Schwangerschaft trat nach 1–3maligem Decken ein. Andere Rassen, welche Brunsterscheinungen während der längsten Tage in verschiedenen Teilen der Welt zeigen, sind in Tabelle I zusammengefasst.

[1] V. Warbritton and F. F. McKenzie, Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Sta. no. *257*.

[2] E. S. E. Hafez, J. Agric. Sci. *42*, 189 (1952).

[3] A. S. Parkes and J. Hammond, Proc. Roy. Soc. Med. *33*, 483 (1940).

[4] H. Hoelzer, Dtsch. tierärztl. Wschr. *55*, 136 (1948).

The Use of F.S.H. Gonadotrophins to Obtain Functioning Ovarian Grafts in the Anterior Chamber of the Eye

It is well known that the transplant of female gonads on the iris tissue of the anterior chamber gives generally positive results. The active growth of the homologous transplantation is obviously good, but autologous transplantation is, of course, better. In every case the grafts, investigated in a number of females treated with pregnant woman's urine, did not give evidence of follicular hæmorrhagic reaction. Infact the functional reactivity to the hormonal action of the gonad still *in situ* and that of the gonad transplanted in anterior chamber, differ widely: in the former the reaction was evaluated to be 300 times greater than in the latter.

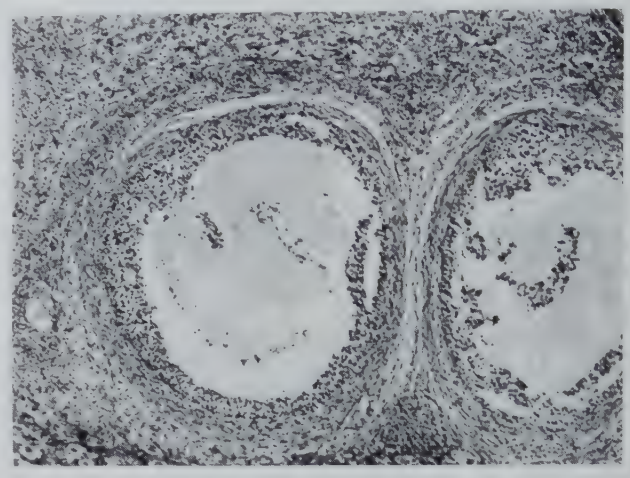


Fig. 1.—Microphotograph of mature ovary of rabbit, *in situ*.

From my investigations it appears that reactivity is also very slight when total ovariectomy is performed on the animal before the gonad is grafted in the anterior chamber, although some authors have reported positive results (Allen and Preist; Podlescka and Dworzak; Goodman; May[1]).

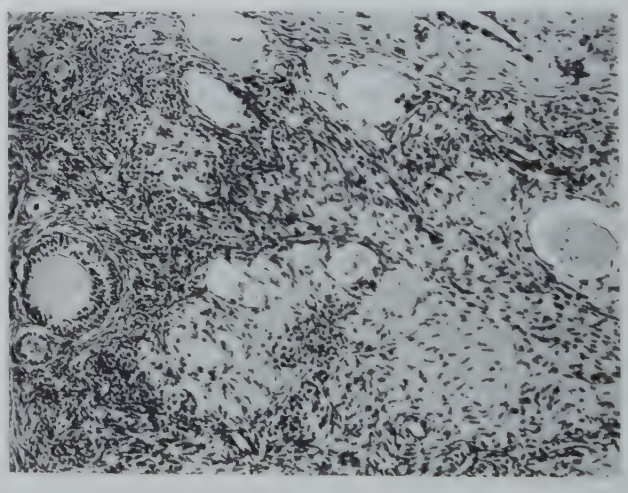


Fig. 2.—Microphotograph of mature ovary of rabbit after residence in anterior chambre for 20 days. The animal received small doses of F.S.H.

It is interesting that animals treated with small amounts of F. S. H. gonado-trophins (25 I.U. daily administred intramuscularly, in the first 8 days following the ovarian graft in the anterior chamber) show a highly increased rate of successful transplantations, as well as a better active grow of grafts. Now, fifteen days after the end of the treatment mentioned, the functional

[1] E. Allen and F. O. Preist, Surg. Gyn. Obst. *55*, 533 (1932). – L. Goodman, Anat. Record *59*, 223 (1934). – R. N. May, C. r. Soc. Biol. *138*, 775 (1944). – L. Podlescka and H. Dowrzak, Med. Klin. *30*, 438 (1934).

test with 10 cm³ of pregnant woman's urine or with 200 I.U. of F.S.H. gonadotrophins was performed and the transplanted gonad showed a reaction which was entirely analogous to that induced by FRIEDMANN's test for rabbit's ovaries *in situ*.

L.H. gonadotrophin had no trophic action on the thriving and functioning of the ovarian graft.

The ovarian transplants in the anterior chamber which had been favorably influenced by F.S.H. gonadotrophin, did not react to non-pregnant woman's or man's urine, as normal ovaries *in situ* do. The operative technique followed for the ovarian grafts was essentially that of VORS[1].

The animals employed were albino female rabbits weighing about 2 kilos. PABYRN's gonadotrophin was used.

Further details on the biological behaviour of the grafts treated with gonado-stimuline will be published elsewhere.

M. COLONNA

Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, Rome, March 12, 1954.

Riassunto

È stata studiata la possibilità di ottenere in camera anteriore innesti ovarici, sensibili all'azione di urina di donna gravida.

È stato osservato che le gonadotropine F.S.H. favoriscono la crescita dell'ovaio innestato, mentre le gonadotropine L. H. non mostrano alcuna azione.

Il preparato innestato in camera anteriore reagisce all'inoculazione di urina di donna gravida, mentre non è influenzato dall'inoculazione di urina di donna non gravida o di urina di uomo.

[1] J. VORS, *Greffe Ovarienne intra-oculaire chez la Lapine castrée. Application au Diagnostic de la Gestation* (Vigot Frères, Paris, 1949).

Examen histopathologique de souris irradiées après injection de cystéamine

La cystéamine[1] (= β-mercaptoéthylamine = Bécaptan = $HS–CH_2–CH_2–NH_2$) injectée avant l'irradiation, protège la souris C57 contre une dose de 700 r, mortelle en 8 à 15 jours pour tous les témoins. On ignore les raisons de la survie des animaux injectés[2]. Si on suit le poids et la leucocytose, on voit que l'effet de l'irradiation est le même chez les témoins et les injectés pendant deux à quatre jours; ce n'est qu'après ce laps de temps que les animaux protégés se séparent nettement des contrôles[3]; ils augmentent de poids et régénèrent rapidement leurs tissus atteints, à l'exception de l'ovaire[4].

Deux interprétations ont été proposées pour expliquer l'action d'autres protecteurs. BETZ[5] pense que le cyanure ne fait que diminuer l'intensité de la réaction hypophysosurrénalienne, ce qui revient à dire que le cyanure diminuerait la radiosensibilité soit des centres nerveux qui contrôlent l'hypophyse, soit de cette glande elle-même.

CRONKITE, BRECHER et CHAPMAN[1] admettent que la cystéine protège, contre la destruction par les rayons X, un facteur de régénération dont l'action ne se fait sentir qu'après une latence de quelques jours. Cette seconde interprétation peut devenir une utile hypothèse de travail.

Des travaux récents de MAISIN et de ses collaborateurs[2] ont montré l'importance du foie dans la régénération des organes hématopoiétiques après irradiation.

C'est pourquoi nous avons examiné en détail les lésions histologiquement visibles du foie et de trois organes radiosensibles (la rate, le thymus et l'épithélium intestinal) chez la souris irradiée immédiatement après injection intrapéritonéale de cystéamine (3 mg pour une souris de 20 g). La dose de rayons X a toujours été de 700 r (250 kv, Cu 0,5 mm, distance focale 10 cm, champ 100 cm², débit 90 r/min); les animaux étaient irradiés par groupes de 5 à 8 dans une boîte en carton ou en plastique[3].

I.–Dans une recherche préliminaire sur des souris «champagne» de race pure, nous n'avons observé aucune différence dans l'aspect des lésions du thymus, de la rate et de l'intestin, en comparant 1, 3, 6 et 24 h après l'irradiation, les organes des contrôles et des souris injectées de Bécaptan. Le foie de ces souris n'a pas été examiné.

II.–Les souris noires C57 de notre propre élevage paraissent plus favorables à une étude fouillée. Dans une première série, la rate des animaux protégés est moins pycnotique que chez les contrôles 6 h après l'irradiation; trois jours après, la régénération est nettement plus forte chez les premières. Les thymus présentent des images identiques dans les deux groupes de souris. Dans l'intestin, pas de différence non plus, la régénération paraissant à peu près aussi rapide et intense chez les témoins que chez les souris injectées de cystéamine.

III.–Si on prolonge le temps de survie après l'irradiation (4, 5 et 6 jours) on constate que la régénération est influencée favorablement par l'injection préalable de cystéamine, du moins quand il s'agit de la rate et de l'intestin.

IV.–Une étude quantitative et statistique était nécessaire. Elle fut réalisée sur les organes de 20 souris C57; les critères varient selon les organes parce qu'ils sont choisis pour des raisons de facilité technique.

Groupe I: 5 souris sacrifiées 6 h après 700 r.
Groupe II: 5 souris ayant reçu 700 r après injection de 3 mg de Bécaptan et sacrifiées 6 h après.
Groupe III: 5 souris sacrifiées 4 jours après 700 r.
Groupe IV: 5 souris ayant reçu 700 r après injection de 3 mg de Bécaptan, et sacrifiées 4 jours plus tard.

Nous admettons que, après 6 h, se sont essentiellement les processus de dégénérescence, l'action primaire des rayons X que l'on voit. Après 4 jours, c'est l'intensité de la régénération que l'on observe.

A.–*Processus de dégénérescence*
(groupes I et II)

1° *Rate.* L'intensité du processus de pycnose nucléaire a été estimé en mesurant, dans les nodules lym-

[1] Synthétisée par les Laboratoires de Recherches de la Société LABAZ.

[2] Z. M. BACQ, A. HERVÉ, P. FISCHER, J. LECOMTE, M. PIROTTE, G. DECHAMPS, H. LE BIHAN et P. RAYET, Rev. méd. Liège *8*, 104 (1953); Science *117*, 633 (1953).

[3] Z. M. BACQ, A. HERVÉ et F. SCHERBER, Arch. intern. Phar. thérap. *94*, 93 (1953).

[4] Z. M. BACQ, P. DESAIVE et A. HERVÉ, Exper. *8*, 436 (1952).

[5] H. BETZ, C. r. Soc. Biol. *144*, 593 (1950).

[1] F. P. CRONKITE, G. BRECHER et W. H. CHAPMAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *76*, 396 (1951).

[2] M. MANDART, G. LAMBERT, H. MAISIN et J. MAISIN, C. r. Soc. Biol. *146*, 1647 (1952).

[3] Ces irradiations ont été faites par le Dr A. HERVÉ dans le service de radiothérapie du Prof. DESAIVE. Nous tenons à les remercier.

phoïdes, le rapport entre la surface où les noyaux sont en majorité intacts et la surface totale des nodules.

Pour le groupe I, ce rapport varie de 0,063 à 0,221 et il est en moyenne de 0,151. Pour le groupe II, il varie de 0,290 à 0,471, avec une moyenne de 0,371. L'étendue des plages pycnotiques est donc plus petite chez les souris traitées par la cystéamine. Chez les contrôles (groupe I), la pycnose s'étend au delà des nodules lymphoïdes, ce qui n'est pas le cas chez les souris injectées.

2° *Thymus.* Dans le thymus, nous avons étudié l'intensité de la pycnose en établissant le rapport entre le diamètre transversal des régions intactes et le diamètre transversal du lobule thymique.

Pour le groupe I, ce rapport varie de 0,217 à 0,287, avec une moyenne de 0,242. Pour le groupe II, il varie de 0,229 à 0,300 avec une moyenne de 0,268.

La différence n'est pas significative. En effet, un calcul montre que le degré de signification statistique SS = 1,6, alors qu'il devrait atteindre 3.

3° *Foie.* La différence entre les groupes I et II apparaît clairement: dans le groupe I, les cellules parenchymateuses présentent un aspect spongieux, tandis que celui-ci est à peine esquissé chez les souris du groupe II.

4° *Intestin.* Nous avons compté les noyaux pycnotiques (10 champs microscopiques par animal).

Dans le groupe I, le nombre varie de 40 à 55; il est en moyenne de 45.

Dans le groupe II, il varie de 29 à 61, et reste en moyenne de 44.

Aucune différence significative entre les deux groupes.

B.–*Processus de régénération*
(groupes III et IV)

1° *Rate.* Dans le groupe III (contrôles), à côté de nodules formés d'éléments lymphatiques normaux, il en est d'autres où prédominent des éléments à noyaux pycnotiques. Cela se produit surtout à la périphérie de l'organe. Par contre, dans le groupe IV, les noyaux en pycnose sont très rares.

Après injection de cystéamine, l'élimination des débris nucléaires et la régénération sont donc plus rapides au niveau de la rate.

2° *Thymus.* La numération des mitoses (10 champs microscopiques par animal) donne les résultats suivants: pour le groupe III, 40 à 54 mitoses, avec une moyenne de 48; pour le groupe IV, 45 à 66 mitoses, avec une moyenne de 60. Cependant, la différence n'est pas entièrement significative: SS = 2,66.

3° *Foie.* Alors que dans le groupe III, le parenchyme est très spongieux, il présente un aspect pratiquement normal dans le groupe IV. L'effet du Bécaptan est net.

4° *Intestin.* La numération des mitoses (par 10 champs microscopiques) donne: pour le groupe III: 51 à 71, avec 61 en moyenne; pour le groupe IV: 80 à 93, avec 83 en moyenne.

La régénération est donc plus intense chez les animaux traités à la cystéamine.

V.–Dans les expériences précédentes, les pièces étaient fixées au Bouin et enrobées à la paraffine. Dans cette nouvelle série, nous avons repris l'expérience IV en fixant le foie et la rate au formol et en coupant les pièces à congélation.

Pour la rate, nous retrouvons les mêmes résultats qu'auparavant; mais les différences entre le tissu hépatique des témoins et celui des souris injectées s'estompent. C'est ainsi que les cellules du parenchyme hépatique présentent, 6 h après l'irradiation, un aspect légèrement spongieux, qu'il s'agisse d'animaux injectés ou non. Par contre, 4 jours après l'irradiation, l'état vacuolaire du cytoplasme est très prononcé chez tous ces animaux.

Cet aspect faisait penser à une dégénérescence lipidique du foie. En effet, 6 h après l'irradiation, il y a une surcharge à fins grains. Mais 4 jours plus tard, les gouttelettes graisseuses sont peu nombreuses chez les témoins, et elles ont pratiquement disparu chez les souris injectées. La cystéamine n'a donc pas d'action nette sur le contenu lipidique des cellules hépatiques.

On a signalé[1] que le Bécaptan réduit la destruction des acides nucléiques de la rate après irradiation totale par les rayons X. Cette réduction s'explique, sans doute, par l'action frénatrice sur le processus de dégénérescence et l'action accélératrice sur le processus de régénération. En effet, des coupes colorées au vert de méthyle-pyronine (expérience IV) ne montrent pas de différence dans l'intensité de la coloration au niveau des cellules individuelles. Une exception: le foie. Dans cet organe, la coloration est plus intense chez les souris traitées au Bécaptan; chez les témoins, une partie du cytoplasme est remplacée par des vacuoles.

Par conséquent, la cystéamine influence à la fois le processus de dégénérescence et celui de régénération chez les animaux irradiés. Elle modère le premier processus dans la rate et accentue le second dans cet organe, dans l'intestin et probablement dans le thymus.

Le foie constitue un cas particulier. Dans cet organe, c'est le cytoplasme qui est altéré, il semble que les noyaux le soient aussi, mais l'étude de ces lésions discrètes demande un appareillage spécial[2]. Le gonflement du cytoplasme est une manifestation précoce et générale dans les lésions par les rayons X et par les substances radiomimétiques[3]. Ici, ce gonflement aboutit à la vacuolisation. Chez les souris injectées de Bécaptan[4], cette altération apparaît sur pièces fixées au formol mais ne s'observe pas sur les pièces traitées par un liquide picriqué. Elle est plus profonde chez les animaux témoins, car la vacuolisation est nette dans les deux cas. L'acide picrique est un excellent fixateur du glycogène. La protection du foie se ramène peut-être à une protection de facteurs intervenant dans le métabolisme des glucides; en effet, Fischer[5] a démontré que la cystéamine empêche chez le rat à jeun l'augmentation de la teneur en glycogène du foie qui survient dans les 8 h qui suivent l'irradiation totale.

Ces observations sont favorables à l'hypothèse qui fait du foie une source radiosensible de facteurs de régénération. Elles montrent que la cystéamine peut avoir un effet de protection *directe* sur certains organes (foie, rate), et pas uniquement une action sur la régénération. Signalons que des protections directes ont été observées, sur des cellules végétales, par la cystéine[6] et par le glutathion[7]; d'autre part, Devik[8] constate la protection des cellules de la moelle osseuse par la cystéine neutralisée.

M. A. Gerebtzoff et Z. M. Bacq

Laboratoires d'anatomie et de pathologie de l'université de Liège; Centre interuniversitaire belge de recherches sur la croissance, Liège, le 29 janvier 1954.

1 C. Gros, P. Mandel et J. Rodesch, C. r. Acad. Sci. *236*, 2010 (1953).

2 S. Warren, M. W. Holt et S. C. Sommers, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *77*, 288 (1951); Lab. Invest. *2*, 408 (1953).

3 S. Warren, M. W. Holt et S. C. Sommers, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *77*, 288 (1951); Lab. Invest. *2*, 408 (1953). – P. Dustin, Nature *159*, 794 (1947).

4 J. Pasteels et G. Leonard, Bull. Histol. appl. *8*, 293 (1935).

5 P. Fischer, Arch. internat. Physiol. *57*, 134 (1954).

6 A. Forssberg et N. Nybom, Physiol. Plantarum *6*, 78 (1953).

7 K. Mikaelsen, Science *116*, 172 (1952).

8 F. Devik, Brit. J. Radiol. *26* (1954) (sous presse).

Summary

The injection of β-mercaptoethylamine to C 57 black mice before irradiation (700 r) effects a partial protection of liver and spleen. It has a strong accelerating action on regeneration in spleen, intestine and probably thymus. The experiments suggest that this action is related to a protection of glucidic metabolism.

Diminution de radiosensibilité du rat adulte en hypothermie profonde

Dans les travaux consacrés à l'influence des températures basses en radiobiologie on utilise presque toujours des unicellulaires, des tissus, des organes isolés ou des poïkilothermes. La réponse des homéothermes a été beaucoup moins étudiée.

Barlow et Seller[1], Kimeldorf et Newson[2] et Smith[3] ont étudié la question chez des rats, Lacassagne[4] chez des souriceaux, Storer et Hempelmann[5] chez des souris adultes et des souriceaux, Evans, Goodrich et Slaughter[6] sur la peau du rat et Doull et coll.[7] chez des animaux hibernants.

Nous avons étudié chez le rat l'action d'une hypothermie profonde réalisée pendant le temps nécessaire à l'administration d'une dose mortelle de rayons X.

Matériel expérimental et méthodes

Les homéothermes peuvent être amenés en hypothermie soit par immobilisation et immersion dans l'eau glacée (Horwath[8]), soit par asphyxie et refroidissement, conditions dans lesquelles l'animal abaisse très vite sa température corporelle (Djaja[9]). Nous avons employé ce procédé parce qu'il est simple et ne provoque pas de troubles visibles chez l'animal après le réveil de l'hypothermie. Cette méthode a été décrite en détail dans l'étude de l'influence de l'hypothermie sur le fonctionnement de la glande thyroïde chez les homéothermes[10]. Dans ce travail nous avons employé des rats des deux sexes, d'un poids de 130–150 g. Les animaux ont été irradiés lorsque la température rectale était de 14–15°C. *Conditions d'irradiation:* Appareil Picker, 250 kV, 18 mA, filtre 0,25 mm Cu, distance focale 50 cm; champ d'irradiation: 10 × 10 cm; intensité: 80 r/min; temps d'irradiation: 10 min. Pendant l'irradiation les animaux sont installés dans une boîte en carton. La dose a été mesurée par un dosimètre «Universal» Siemens. Pour nos animaux normaux, une dose de 800 r est mortelle en 17 jours. Après l'irradiation les rats sont laissés à la température de la chambre. Nous avons observé les animaux pendant 30 jours.

Partie expérimentale

1° *Irradiation durant l'hypothermie. a) Hypothermie avec asphyxie.* 13 animaux ont été refroidis jusqu'à une température rectale de 14–15°C et, tout de suite après, irradiés à la dose mortelle de 800 r 13 animaux témoins ont reçu la même dose. Après un mois, 8 des 13 animaux refroidis étaient encore vivants tandis que tous les animaux témoins étaient morts 17 jours après l'irradiation.

Un second groupe de 9 rats a été irradié en hypothermie profonde à la dose de 900 r. Après un mois, 5 de ces animaux étaient en vie tandis que les 10 animaux témoins irradiés à la même dose étaient morts endéans les 12 jours suivant l'irradiation (Fig. 1).

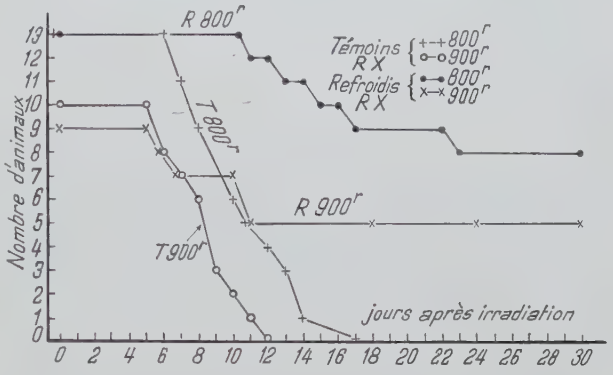


Fig. 1. Courbe de mortalité des rats irradiés en hypothermie profonde.

b) Hypothermie en présence d'oxygène. Dans les expériences suivantes nous avons examiné l'influence de l'hypothermie sans hypoxie.

A.–Dans un premier groupe de rats, le refroidissement a été effectué dans des bocaux individuels munis d'un système d'aération sous pression normale. La température des animaux ainsi traités est tombée plus bas que celle des rats de la première série (de 13 à 11°C).

Des 10 animaux refroidis et irradiés par 800 r, 8 étaient encore en vie le 30e jour.

B.–Dans un second groupe de 8 rats, le refroidissement s'est effectué en deux phases: 1° Dans un milieu confiné pendant 1 h jusqu'à obtention d'une température de 20°C; 2° dans un flacon en matière plastique dont la pression intérieure a été maintenue à 1,25 at. pendant 1 h. Les 8 animaux ont été irradiés dans l'enceinte sous pression par une dose de 800 r.

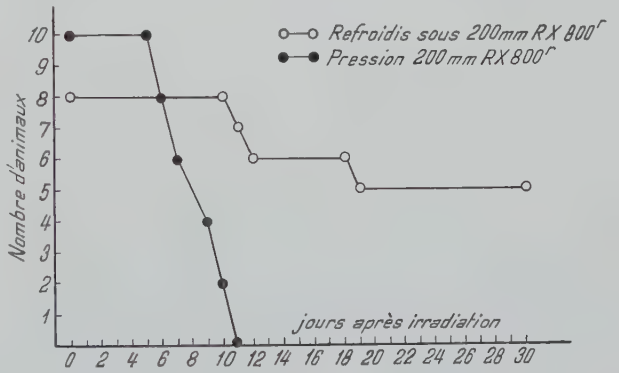


Fig. 2. Courbe de mortalité des rats irradiés en hypothermie profonde sous 1,25 at.

10 animaux témoins ont été soumis au même traitement, refroidissement excepté. 30 jours après l'irradiation, 5 des 8 animaux refroidis étaient en vie tandis que tous les témoins étaient morts le 11e jour (Fig. 2).

[1] J. C. D. Barlow et E. A. Sellerm Fed. Proc. *11*, 9 (1952).
[2] D. J. Kimeldorf et B. D. Newson, Amer. J. Physiol. *171*, 349 (1952).
[3] W. W. Smith, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. *71*, 498 (1949).
[4] A. Lacassagne, C. r. Acad. Sci. *215*, 231 (1942).
[5] Storer et L. Hempelmann, Amer. J. Physiol. *171*, 341 (1952).
[6] T. C. Evans, J. P. Goodrich et J. C. Slaughter, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. *47*, 434 (1941).
[7] J. Doull, J. P. Peterson et K. P. Dubois, Fed. Proc. *11*, 340 (1952).
[8] A. Horwath, Zbl. med. Wiss. *45*, 47 (1872).
[9] J. Djaja, C. r. Acad. Sci. *210*, 80 (1940).
[10] E. Verzár, V. Vidović et S. Hajduković, J. Endocrin. *10*, 46 (1953).

c) Hypothermie après anesthésie générale. Dans le but de diminuer par anesthésie la réaction de la glande surrénale et la sécrétion des amines (noradrénaline et adrénaline) pour lesquelles Bacq et Hervé ont constaté un certain degré de protection contre l'irradiation, deux groupes d'animaux ont été anesthésiés au Nembutal, puis refroidis par asphyxie. Chez ces animaux, le refroidissement a été plus rapide.

Un premier groupe de 10 rats a reçu 0,30 mg de Nembutal par voie intrapéritonéale, mais cette dose s'est montrée toxique pour les animaux refroidis, car 7 d'entre eux moururent pendant le refroidissement ou l'irradiation. Un second groupe de 10 rats reçut 0,18 mg de Nembutal par voie intrapéritonéale. 3 de ces animaux succombèrent pendant le refroidissement. Des 7 animaux restant, irradiés par 800 r, 3 étaient en vie 30 jours après l'irradiation.

Conclusions

Par une technique appropriée, nous avons mis des rats adultes, des deux sexes, en hypothermie profonde (température rectale de 14–15°C). Dans ces conditions, la respiration et le rythme cardiaque sont fortement ralentis.

1° Les rats irradiés en hypothermie profonde avec des doses mortelles de 800 et 900 r de rayons X sont partiellement protégés. 50% de ces animaux survivent plus de 30 jours alors que tous les témoins meurent en 17 jours.

2° Cette protection est identique lorsque le refroidissement se fait en présence d'oxygène ou sous une pression d'air de 1,25 at.

S. Hajduković, A. Hervé et V. Vidović

Laboratoire de Pathologie et de Radiothérapie de l'Université de Liège, Centre interuniversitaire de recherches sur la croissance, Liège, le 15 février 1954.

Summary

Using an appropriate technique, we put adults rats of both sexes under deep hypothermy (rectal temperature of 14–15°C). Under these conditions, the respiration and the cardiac rhythm are definitely slowed down.

(1) Rats irradiated in a state of deep hypothermy with lethal doses of 800 and 900 r of X-rays, are partially protected. 50% of these animals survived more than 30 days, whereas all control animals died after 17 days.

(2) The same degree of protection is obtained if the cooling is made in the presence of oxygen or under an air pressure of 1·25 atmosphere.

PRO EXPERIMENTIS

Perossido di idrogeno nei tessuti animali

Tentativi di determinazione quantitativa

La formazione di perossido di idrogeno nel corso delle ossidazioni biologiche è stata oggetto di appassionata discussione fin dai primi studi sulle reazioni ossido-riduttive: sostenuta da Wieland e negata da Warburg con argomenti altrettanto convincenti, si ritiene generalmente che abbia luogo solo allorquando l'idrogeno sottratto ai metaboliti ossidabili sia stato labilizzato dalle deidrogenasi ossitrope di Dixon o dal sistema Co I – fermento giallo. L'acqua ossigenata rappresenterebbe perciò il prodotto finale della respirazione cianostabile[1].

In epoca più recente un gruppo di ricercatori giapponesi (Yamafuji e coll.) credette invece di poter affermare, a conclusione delle proprie ricerche sui processi terminali della respirazione cellulare, che le ossidazioni organiche si accompagnano sempre a formazione di H_2O_2 e che è possibile stabilirne il titolo in materiale biologico, con un metodo non pubblicato[1]. Va rilevato che l'acqua ossigenata non era stata mai dimostrata, nemmeno qualitativamente, in tessuti animali contenenti catalasi o perossidasi e che gli stessi lavori di Wieland[2], che hanno confermato l'ipotesi della formazione di H_2O_2 per deidrogenazione di substrati ossidabili, sono stati condotti su modelli sperimentali privi di tali enzimi.

Ma più che la dimostrazione con mezzi chimici, è la abbondante distribuzione di catalasi nei più diversi tessuti a rendere molto verosimile la formazione in essi di H_2O_2. Il fatto che esista uno stretto parallelismo fra attività respiratoria e catalasica dei tessuti e organismi; che la catalasi aumenti o diminuisca nel sangue dell'uomo a seconda delle stagioni e delle altitudini, e quindi del ritmo metabolico (Rigoni[3]); che si possa provocarne la sintesi in cellule viventi mediante stimoli (radiazioni ultraviolette) che elevino la concentrazione di H_2O_2 (Yamafuji[1]), sono altrettante prove dell'intimo rapporto fra ossidazioni biologiche e funzione di smaltire H_2O_2.

La titolazione del H_2O_2 nei tessuti ha invece un notevole interesse in rapporto alla possibilità di verificare alcune ipotesi su problemi di patologia: è stato descritto da Rondoni un «effetto aggregante» del H_2O_2 su sistemi proteici complessi[4], e poichè i tessuti neoplastici difettano di H_2O_2 possa determinare un rimaneggiamento ultrastrutturale del materiale proteico a significato patogenetico[5]. Yamafuji attribuisce ad una accresciuta concentrazione endocellulare di H_2O_2 la formazione di virusproteine[6].

Un primo tentativo di dosaggio di H_2O_2 in organi metabolicamente attivi (fegato e rene) e in tumori trapiantabili del ratto e del topo é stato eseguito da Rondoni e Cudkowicz[7] con un metodo chimico; sono stati ottenuti valori dell'ordine di $18 \cdot 10^{-8}$ e $22 \cdot 10^{-7}$ g/mg secco rispettivamente nel fegato e nel rene di ratto e di $84 \cdot 10^{-8}$ e $35 \cdot 10^{-7}$ g/mg secco negli stessi organi di topo. Il metodo è stato ulteriormente elaborato e nel contempo sono stati eseguiti altri tentativi con procedimenti chimici e non.

Una difficoltà comune a tutti i metodi provati è rappresentata dal fatto che le reazioni chimiche da impiegarsi debbono possedere il requisito della più alta specificità in quanto vengono a svolgersi in un mestruo molto eterogeneo quale è un omogenato di organo.

Il materiale, subito dopo la morte dell'animale (dissanguamento), viene omogenizzato in KCN 6,5%; prelevato un campione per la determinazione del peso secco, si precipitano le proteine con un ugual volume di acido tricloroacetico 20% e si filtra per carta si da ottenere una soluzione chiara che, pur mantenendo una certa torbidità variabile a seconda dell'organo e della diluizione, è adatta a reazioni colorate o di precipitazione.

Secondo Schwarz e Giese[8] i sali trivalenti di cerio

[1] Svolgimento completo delle teorie sulle ossido-riduzioni in C. Oppenheimer e K. Stern, *Biolog. Oxidation* (Junk, The Hague 1939).

[1] K. Yamafuji, Enzymol. *13*, 233 (1949).

[2] Svolgimento completo delle teorie sulle ossido-riduzioni in C. Oppenheimer e K. Stern, *Biological Oxidation* (W. Junk, The Hague 1939).

[3] M. Rigoni, Arch. Fisiol. *28*, 482 e 537 (1930).

[4] P. Rondoni e M. Bassi, Enzymol. *15*, 70 (1951).

[5] P. Rondoni, Boll. Oncologia (Lega ital. Lotta contro Tumori) *26*, 245 (1952).

[6] K. Yamafuji, Enzymol. *15*, 223 (1951).

[7] P. Rondoni e G. Cudkowicz, Exper. *9*, 348 (1953).

[8] R. Schwarz e H. Giese, Z. anorg. Chem. *176*, 217 (1928).

danno in presenza di H_2O_2 un precipitato giallastro di perossido di cerio che può venir scisso in $Ce(SO_4)_2$ e O_2 da $KMnO_4$ in soluzione solforica. Il volume di ossigeno è proporzionale al H_2O_2 originariamente presente. Si è pensato di poter applicare il metodo a materiale biologico trasportando il precipitato di perossido in una vaschetta manometrica di WARBURG e ponendo in appendice laterale $KMnO_4$ da traversare al momento opportuno, ma la inevitable contaminazione con sostanze organiche che di fronte al permanganato sottraggono O_2 e producono CO_2, altera irrimediabilmente i valori manometrici. La causa di errore permane anche dopo ripetuti lavaggi del precipitato.

BERTALAN[1] ha dosato l'acqua ossigenata in presenza di sostanze organiche mediante un eccesso di cloruro stannoso ($SnCl_2$) in soluzione cloridrica, titolato di fresco con jodio. In presenza di H_2O_2 si forma cloruro stannico, e poichè con lo jodio si svela solo $SnCl_2$, si può rititolarne l'eccesso e dalla differenza fra i due valori titrimetrici risalire alla quantità di H_2O_2. Il metodo consentirebbe il rilievo di quantità di H_2O_2 dell'ordine di $10 \cdot 10^{-6}$ g, ma il suo impiego non si è mostrato soddisfacente per la frequente presenza di altri composti ossidanti il cloruro stannoso nel materiale biologico.

RONDONI e CUDKOWICZ[2] hanno aggiunto al materiale convenientemente preparato una piccola quantità di $Ti_2(SO_4)_3$ in soluzione solforica: in presenza di tracce di H_2O_2 si formano derivati di perossido di titanio che colorano il mestro in giallo. La reazione è altamente specifica e la sua intensità misurabile colorimetricamente. Si erano segnalate fin dall'inizio alcune cause di errore che allo stato attuale del lavoro possono venire così schematizzate:

1° Il solfato di titanio, solubile solo in acidi diluiti, dà un microprecipitato non trattenibile con i comuni filtri quando il reattivo viene aggiunto alla soluzione in esame. I valori di estinzione sono perciò dovuti per una certa quota al $Ti_2(SO_4)_3$ divenuto insolubile per la diversa diluizione dell'acido solforico. L'impiego di acido cloridrico riduce al minimo l'inconveniente ed inficia in misura trascurabile i risultati.

2° Non si può costruire una curva empirica standard da cui estrapolare i valori di H_2O_2 nei singoli campioni perchè ogni omogenato differisce da un altro per colore di fondo e per torbidità. Infatti si è constatato che una stessa quantità di H_2O_2 dà valori colorimetrici diversi in omogenati di organi differenti (fattore colore) e in omogenati dello stesso organo più o meno diluiti (fattore torbidità). È necessario quindi costruire un tratto di curva per ciascun campione da analizzare: eliminato il H_2O_2 con argento finemente suddiviso, si aggiungono alla soluzione in esame quantità scalari di H_2O_2. Fenomeni di adsorbimento che avvengono alla superficie delle particelle di Ag si traducono in modificazioni di trasparenza, ragion per cui viene nuovamente introdotta la causa di errore che si voleva evitare assia l'influenza di mutevoli proprietà ottiche dei singoli omogenati. Perciò si è preferito stabilire il coefficiente di estinzione sullo stesso materiale su cui è stata eseguita la misurazione, aggiungendo subito dopo dosi scalari di H_2O_2.

Le modificazioni apportate al metodo non hanno mancato di riflettersi sui valori assoluti di H_2O_2/mg di tessuto secco, trovati più bassi di quelli precedentemente communicati e di cui si riferirà in altra sede.

I risultati positivi su materiale biologico non più vivente hanno indotto ad eseguire prove su fettine di tessuto sopravivente sospese in liquido di Ringer-fosfati tamponato a pH = 6,8, alla temperatura di 37,5°C in vaschette manometriche di WARBURG[1]. Dopo un breve periodo di respirazione si travasa dall'appendice laterale una soluzione acquosa relativamente concentrata di catalasi pura (Armour Lab.) per cui il H_2O_2 formatosi nel corso della respirazione, e presente nelle proporzioni consentite dal corredo catalasico del tessuto sopravivente, verrà rapidamente scomposto con liberazione di ossigeno molecolare. Un calcolo stechiometrico permetterà di stabilire a quanta acqua ossigenata corrisponda la tensione di ossigeno registrata dal manometro.

Numerosi sono i vantaggi di questo procedimento rispetto a quello chimico: le condizioni di esperimento sono le più vicine possibili a quelle naturali; il rilievo delle misure è diretto e così pure il riferimento al peso secco; la assoluta specificità della reazione catalasica elimina il dubbio che l'ossigeno liberato dal tessuto provenga da altro composto che non sia H_2O_2; la catalasi imbeve le sottili fettine sospese nella vaschetta e raggiunge le strutture più intime che possono invece trattenere una quota di H_2O_2 nelle misurazioni con mezzi chimici.

Considerazioni preliminari sulla sensibilità dei comuni manometri di WARBURG (volumi di ossigeno non inferiori ai 4–5 mm³) consigliavano l'uso di micromanometri date le piccole quantità di H_2O_2 contenute nei tessuti. L'esperimento ha confermato le previsioni poichè solo in alcuni casi, e sempre attraverso letture manometriche piuttosto indaginose, si sono avuti risultati degni di attenzione.

Si può dunque concludere che il perossido di idrogeno è presente in piccolissima quantità (decimi o centesimi di γ/mg di peso secco) nei tessuti animali e che lo si può misurare con un metodo chimico relativamente semplice. I valori assoluti fin'ora comunicati andranno incontro a correzioni parallele al perfezionarsi della metodologia; per quel che riguarda lo studio di quei problemi di patologia a cui si è accennato più sopra, sono però sufficienti i valori relativi che si sono ottenuti, espressione di differenze costanti fra tessuti diversi. G. CUDKOWICZ

Centro di Oncologia sperimentale del Consiglio nazionale delle Ricerche, Sezione di Milano, e Istituto di Patologia generale veterinaria dell'Università di Milano, il 8 febbraio 1954.

Zusammenfassung

Es wurden einige Methoden zur Bestimmung des Wasserstoffperoxyds in biologischem Material untersucht, dessen Anwesenheit in metabolisch aktiven Organen (Leber und Niere) und in transplantablen Tumoren der Ratte und der Maus von RONDONI und CUDKOWICZ kürzlich nachgewiesen worden ist.

1. Oxydation des Ce^{III} zu Ce^{IV}-peroxyd, Freimachen des Sauerstoffes durch $KMnO_4$ in Schwefelsäure und Messung des O_2-Volumens im Warburg-Apparat.

2. Oxydation einer bekannten Menge $SnCl_2$ und Bestimmung des Überschusses durch Jodtitration.

3. Eine biologische Methode, in der H_2O_2, das während der Atmung überlebender Gewebe gebildet wird, durch Katalase gespalten und der auf diese Weise entstandene Sauerstoff im Warburg-Apparat gemessen wird.

Die ersten zwei Methoden haben sich jedoch als ungeeignet erwiesen, da beide Reaktionen von verschiedenen, im Homogenat befindlichen Substanzen gestört werden.

Die bisher angewandte Titanmethode wurde verbessert, so dass man unter konstanten Bedingungen zuverlässige relative Werte erhalten kann. Die bisher festgestellten absoluten Werte sind nicht als endgültig zu betrachten, da mit der weiteren Entwicklung der Arbeitsmethoden Änderungen vorauszusehen sind.

[1] J. BERTALAN, Chem. Z. *40*, 373 (1916).

[2] P. RONDONI e G. CUDKOWICZ, Exper. *9*, 348 (1953).

[1] Norme di tecnica in R. DEOTTO, *Metodi manometrici in biologia* (Cappelli, Bologna 1942).

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

The Role of Oxidation in the Biogenesis of Alkaloids

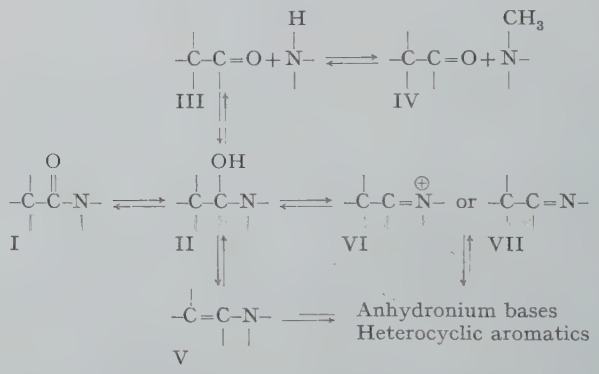
By E. WENKERT, Ames, Iowa[1].

The Mannich condensation involving the interaction between an amino group, a carbonyl function, and a carbanion center present in amines and aldehydes, derivable from amino acid precursors (except for acetonedicarboxylic acid, derivable from citric acid) has served as the basis for the successful correlation and even prediction of the chemical structure of alkaloids obtainable from various plants[2]. Whereas the overall carbon-nitrogen skeleton of most alkaloids can be formulated by this reaction, the latter sometimes being assumed to be the phytochemical process of alkaloid evolution in the plant[3], the finer points in the structure of alkaloids, i.e., the substituents, often remain unexplained.

The ever-recurring alicyclic N-methyl, aromatic O-methyl and methylene-dioxy groupings have been considered as arising from an interrupted basic biogenetic reaction, one wherein a reductive step follows the interaction of formaldehyde (derivable from glycine) and N–H or O–H (except for the methylene-dioxy group, which would be formed by the condensation of the second hydroxyl group with the OH-formaldehyde complex) and thus supercedes the normal carbanion attack on the amine-aldehyde complex[4]. This interpretation has been questioned and hypotheses involving transmethylation[4], or formylation followed by reduction[5] have been advanced.

The relatively high state of oxidation of the average alkaloid (at least as compared to its amino acid precursor) is another striking characteristic of the natural product. While the site of oxidation is located in both the aromatic and aliphatic or alicyclic parts of most alkaloids, only the former has aroused experimental and theoretical interest. Thus the biochemical introduction of oxygen atoms into the aromatic ring has been discussed and reviewed ably by WITKOP[6]. The oxidative phenyl-phenyl interaction has been a long-known phenomenon in the biogenesis of alkaloids[2]. The aporphine and morphine groups are examples of this oxidation, when it results in carbon-carbon bond formation (i.e., production of the diphenyl system), while the biscoclaurine group exemplifies the same reaction involving carbon-oxygen bond formation (i.e., diphenyl ether system). Oxidative nitrogen-phenyl interaction had been shown chemically possible in 1932[1], and is one of the steps in the formulated biogenesis of the alkaloids of the dehydrolaudanosoline[2] and other pyrrocoline types[3]. Finally, the oxidative cleavage of the aromatic nucleus was postulated elegantly by WOODWARD[4] as an important feature of the biogenesis of the strychnos alkaloids. This oxidation is incorporated now in the suggested biogenesis of alkaloids as varied as the cinchona, rauwolfia, alstonia species[5], emetine[5] and β-erythroidine[6].

Regarding the oxidation of the alicyclic portion of an alkaloidal ring skeleton, WITKOP recently suggested[7] that (at least in the case of the indole alkaloids) the likely sites of oxidation would be at positions adjacent to carbon-carbon and carbon-nitrogen double bonds. Since oxidized centers appear also at positions not activated by adjacent unsaturated bonds, the above mechanism is not unique. Curiously, however, the point of oxidation most repeated in a vast majority of alkaloids is the carbon atom bonded to a nitrogen atom. Thus amides (I), carbinolamines (II), amino ketones or aldehydes (III, IV), ene-amines (V), imines (VII), anhydronium salts (VI) and bases and heterocyclic-aromatic nuclei are continuously recurring functional groups in alkaloid chemistry. Since all these functions are related to carbinolamines, it becomes necessary to interpret the origin of this linkage.



On elementary inspection of the energetics of oxidation at centers of hydrogen, saturated carbon and nitrogen atoms, it is apparent that the last would be the most susceptible site to oxidation and that the primary product would be an amine oxide (or a hydroxylamine derivative)[8]. Furthermore, the latter would require simply a rearrangement to furnish a carbinolamine, the pre-

[1] Department of Chemistry, Iowa State College, Ames Iowa.

[2] G. K. HUGHES and E. RITCHIE, Rev. pure App. Chem. *2*, 125 (1952).

[3] G. K. HUGHES and E. RITCHIE, Rev. pure App. Chem. *2*, 125 (1952). – R. F. DAWSON, Adv. Enzymology *8*, 203 (1948).

[4] F. CHALLENGER, Chem. Rev. *36*, 315 (1945).

[5] F. CHALLENGER, Chem. Rev. *36*, 315 (1945). – Cf.: S. KIRKWOOD and L. MARION, Can. J. Chem. *29*, 30 (1951).

[6] B. WITKOP and S. GOODWIN, Exper. *8*, 377 (1952).

[1] R. ROBINSON and S. SUGASAWA, J. Chem. Soc. *1932*, 789. – C. SCHOEPF and K. THIERFELDER, Ann. Chem. *497*, 22 (1932).

[2] J. EWING, G. K. HUGHES, E. RITCHIE, and W. C. TAYLOR, Nature *169*, 618 (1952).

[3] E. WENKERT, Chem. Ind., *1953*, 1088.

[4] R. B. WOODWARD, Nature *162*, 155 (1948).

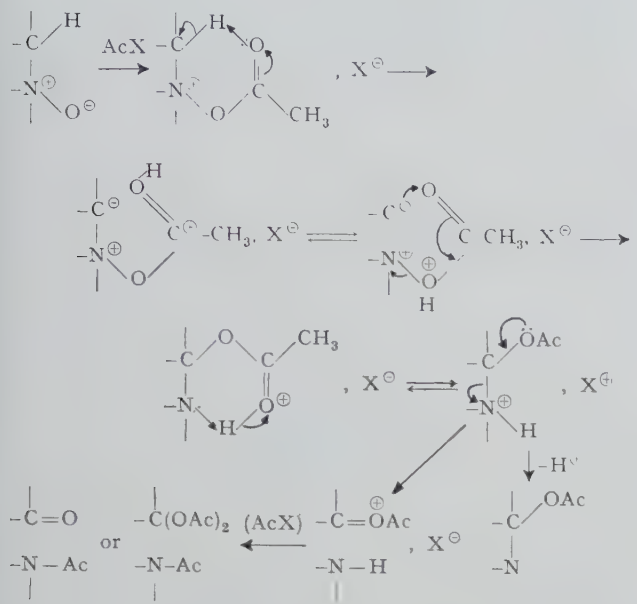
[5] G. K. HUGHES and E. RITCHIE, Rev. pure App. Chem. *2*, 125 1952).

[6] V. BOEKELHEIDE, J. WEINSTOCK, M. F. GRUNDON, G. L. SAUVAGE, and E. J. AGNELLO, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 2550 (1952).

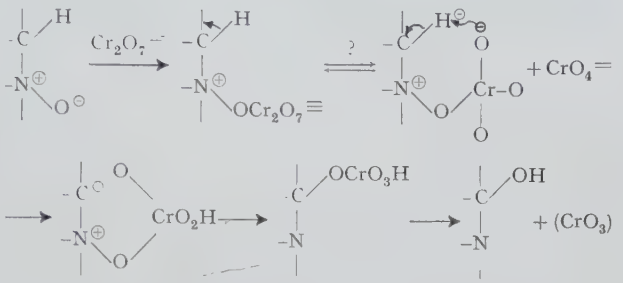
[7] B. WITKOP, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 3361 (1953). – B. WITKOP and S. GOODWIN, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 3371 (1953).

[8] One previous suggestion regarding the use of a N-oxide as a biogenetic intermediate was made by ROBINSON [Chem. Ind. *1952*, 358] in his interpretation of the origin of the 7-hydroxy group in natural hydroxyindole derivatives. The mechanism of this oxidation, however, was not explained.

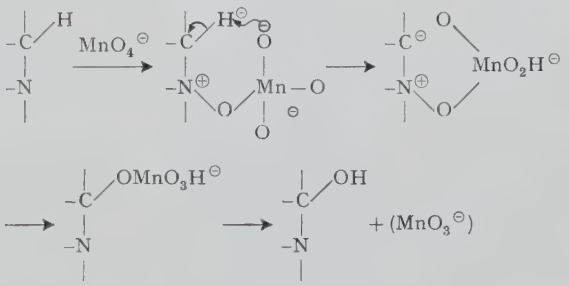
cursor to the various functional groups discussed above. Such rearrangements are common in the chemical literature and probably the most representative among them is the Polonovski reaction[1]. While this reaction,—the spontaneous decomposition of a quaternary acyloxy-



ammonium salt into a carbinolamine acylate or its equivalent[2],—has been used mainly with acetic anhydride on N-methyl containing alkaloids (almost always yielding the N-acetyl-nor compounds), other conditions are also possible[1]. In fact, the dichromate (or chromate)-induced N-oxide-to-carbinolamine conversion may proceed by a similar route:



Generally the reaction proceeds past the carbinol amine stage and produces amides (or N-dealkylated amides)[2], but primary oxidation products,—e.g.: norcodeine and pseudostrychnine (along with 18-oxostrychnine) from the N-oxides of codeine and strychnine respectively[3],—also have been obtained. The oxidation of amines by permanganate probably takes an identical course:

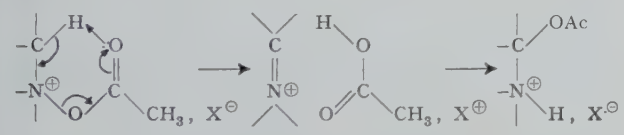


Carbinolamines, amides or further reaction products thereof are the consequence (e.g., nornicotine, nortropine, oxylupanine from nicotine[4], tropine[5] and lupanine[6] respectively[7]). Various other inorganic reagents foster the N-oxide rearrangement especially in heterocyclic aromatic systems[8], although some of them may be applicable in alicyclic nitrogen compounds.

It would appear that in principle any active biologically available ions or enzyme surfaces would be capable of the simple electron transfer inherent in the N-oxide-to-carbinolamine transformation. Furthermore, the alkaloid skeleton, oxidized to the amine oxide by a plant oxidase, would not survive generally as such but be metabolized to the carbinolamine or its equivalents. It is thus not surprizing that only few amine-oxide-

[1] M. Polonovski and M. Polonovski, Bull. Soc. chim. *39*, 1147 (1926), and succeeding papers. – This is a much-neglected reaction even though it seems to be as good as, if not superior to, the von Braun cyanogen bromide degradation of tertiary amines.

[2] The mechanism of the Polonovski reaction (vide supra), never seriously suggested before, most likely involves the internal abstraction of a proton from the carbon adjacent to the positive nitrogen atom thus forming an ylid which cyclically breaks up yielding the carbinol amine acylate or its conjugate acid. The original removal of a proton is reminiscent of the strychnine-to-neostrychnine conversion [R. B. Woodward and W. J. Brehm, J. Amer. Chem. Soc. *70*, 2107 (1948)] and the general formation of ylides [G. Wittig, Angew. Chem. *63*, 15 (1951)]. Whereas these examples are higher energy reactions involving external bases and the production of mesomeric benzyl or allyl carbanions, the case of the Polonovski reaction must be due to the availability of the internal base, the neighboring acetoxyl group. The carbanion, once formed, then could displace acetic acid from nitrogen, possibly even in a concerted reaction, e.g.:



But this mechanism at least cannot be general since the reaction also proceeds on compounds containing nitrogen at a bridgehead thus precluding the formation of a —C=N— intermediate [M. Polonovski, M. Darmon, and P. Rajzman, C. r. Acad. Sci., Paris *234*, 108 (1952)]. Consequently, the carbanion must attack the carbonyl group with a concommitant cleavage of the N–O bond. This phase of the reaction is the five-membered cyclic analogue to the three-membered cyclic mechanism of the Stevens rearrangement [G. Wittig, vide supra], while the unorthodox attack on the carbonyl group is the same as the one proposed for the zinc reduction of α-halo-, α-oxy- [R. B. Woodward, F. Sondheimer, D. Taub, K. Heusler, and W. M. McLamore, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 4223 (1952)], α-amino-, and α-thioketones [N. J. Leonard and J. Figueros, Jr., J. Amer. Chem. Soc. *74*, 917 (1952), and preceding papers].

[1] M. Polonovski and M. Polonovski, Bull. Soc. chim. *39*, 1147 (1926), and succeeding papers.

[2] P. J. Scheuer, W. I. Kimoto, and K. Ohinata, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 3029 (1953).

[3] P. J. Scheuer, W. I. Kimoto, and K. Ohinata, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 3029 (1953). – O. Diels and E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. *49*, 1721 (1916).

[4] E. Spaeth, L. Marion, and E. Zajic, Ber. dtsch. chem. Ges. *69*, 251 (1936).

[5] G. Merling, Amer. Chem. J. *216*, 343 (1883). – R. Willstätter, Ber. dtsch. chem. Ges. *29*, 1579, 1637 (1896).

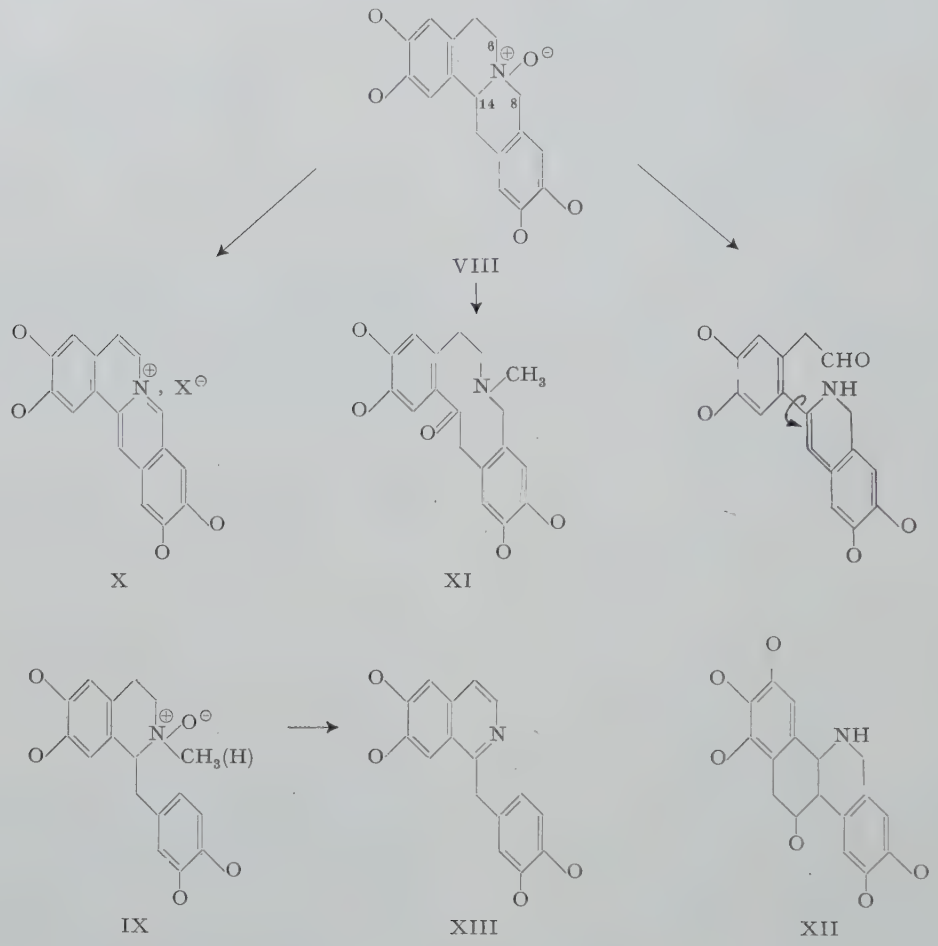
[6] G. R. Clemo and R. Raper, J. Chem. Soc. *1933*, 644, and preceding papers.

[7] It is noteworthy that in the case of the permanganate oxidation of benzyldialkylamines, benzyloxy compounds are the main products. This would be expected on the basis of a lower-energy transition state involving a benzyl carbanion.

[8] E. Ochiai, J. Org. Chem. *18*, 534 (1953).

containing alkaloids have been discovered (e.g.: geneserine, trachelanthine, trilupine, oxymatrine, dilupine, oxychelidonine). They all, however, are in close biological and chemical association with alkaloids of one higher or lower oxidation state.

Amine oxides seem to be the missing link in the often-discussed biogenetic interrelationship of alkaloids[1]. Thus the N-oxides (VIII) and (IX) of compounds derivable from two molecules of dioxyphenylalanine and one of glycine are the likely intermediates in the formation of the berberine (X), cryptopine (XI), benzophenanthridine (XII) and benzylisoquinoline (XIII) alkaloids. Participation of carbons 6-8-14, 14, 6-14, and 6-(8)-14 respectively in N-oxide rearrangements would be required.

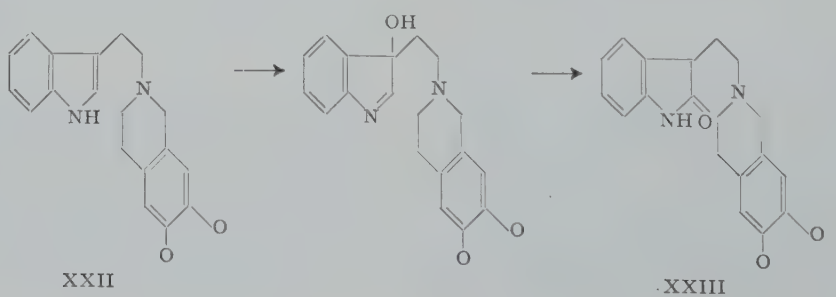


In like fashion the N-oxides XIV, XV and XVI of compounds derivable from tryptophan, dioxyphenylalanine and glycine are the logical precursors of sempervirine (XVII) (and some alkaloids of the alstonia and rauwolfia species), cinchonamine (XVIII) (quinamine and the quinoline-type cinchona alkaloids), vomicine (XIX) (via first the normal biogenetic pathway of the strychnos alkaloids[2]), some mitragyna species (XX)[3]

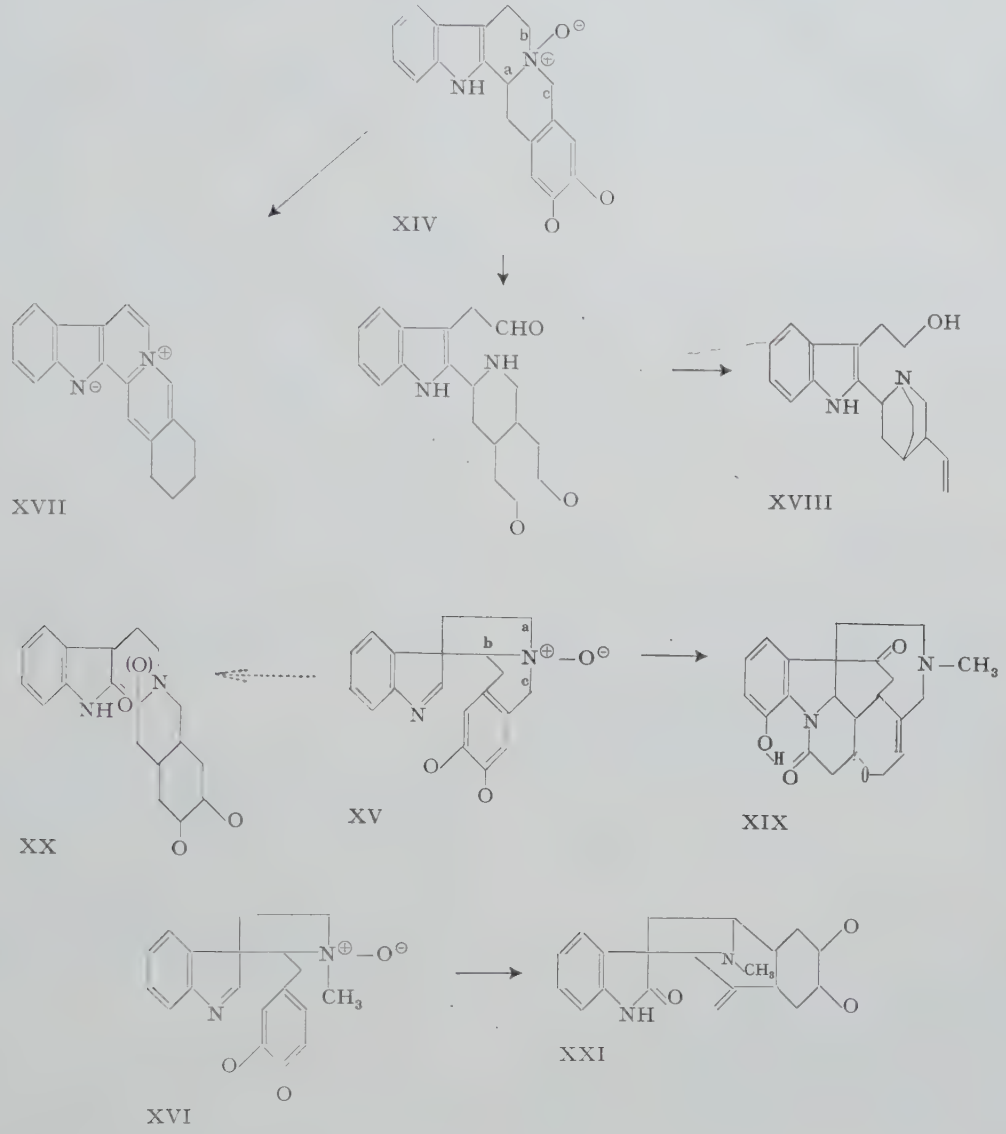
[1] G. K. Hughes and E. Ritchie, Rev. pure App. Chem. *2*, 125 (1952). – R. B. Turner and R. B. Woodward, in R. H. F. Manske and H. L. Holmes, *The Alkaloids*, Vol. III (Academic Press, Inc., Publishers, New York, 1953), p. 54.

[2] R. B. Woodward, Nature *162*, 155 (1948).

[3] The oxindole moiety in mitraphylline, rhyncophylline and formosanine (J. W. Cook, R. M. Gailey, and J. D. London, Chem. Ind. *1953*, 640) may arise from the oxidation of the indolenine part of XV or from the oxidation and hydration-dehydration of a 3-substituted indole (XXII) [A. Ek, H. Kissman, J. B. Patrick, and B. Witkop, Exper. *8*, 36 (1952)]. See Formulas XXII and XXIII. Whereas the intermediate XXII requires a slightly different biogenetic elaboration of its amino acid precursors than XIV or XV, an analogy can be drawn with intermediates proposed in the formation of some pyrrocoline bases (E. Wenkert, Chem. Ind., *1953*, 1088). Final differentiation between paths XV–XX and XXII–XXIII will have to await total elucidation of structures in the mitragyna series.



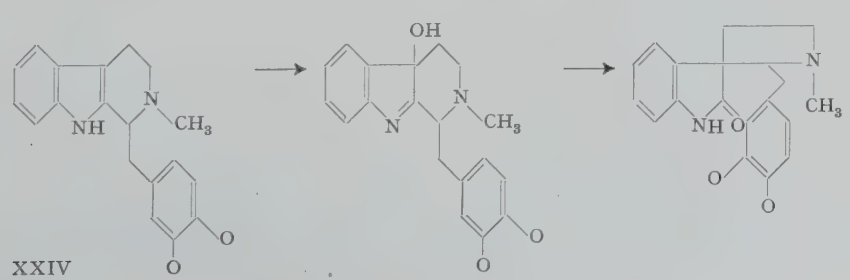
and gelsemine (XXI)[1]. The amine oxide rearrangements would involve each of the following sets of carbon atoms respectively: a-b-c, b, a, a, and b.



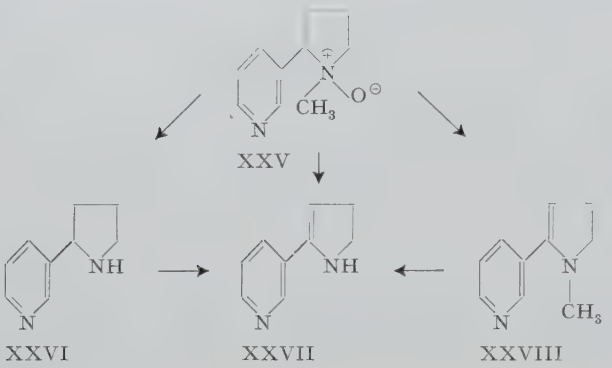
In the realm of the tobacco alkaloids nicotine has been shown definitely to be the precursor of nornicotine (XXVI) in the plant[2]. The removal of the N-methyl group has been ascribed to a process of transmeth-

[1] The introduction of N-oxides as biogenetic intermediates precludes the necessity for the use of unusual processes in the formation of gelsemine. In the original scheme [M. S. Gibson and R. Robinson, Chem. Ind. *1951*, 93. – R. Goutarel, M.-M. Janot, V. Prelog, R. P. A. Sneeden, and W. I. Taylor, Helv. chim. Acta *34*, 1139 (1951)] both tryptophan and (oxy-)phenylalanine were assumed to act as aldehydes, a proposal now superceded by the route XVI–XXI. – An alternative suggestion for the origin of the oxindole part of gelsemine, other than the oxidation of the indolenine group in XVI, might be the oxidation and hydration-rearrangement-dehydration of the indole XXIV [*Cf.*: B. Witkop and A. Ek, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5664 (1951). – B. Witkop and J. B. Patrick, ibid. *75*, 2572 (1953)].

[2] R. F. Dawson, Adv. Enzymology *8*, 203 (1948).



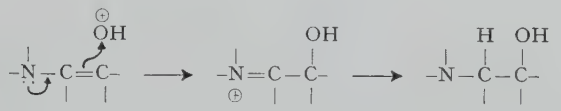
ylation[1], although in view of the lack of direct evidence a biogenetic route via the N-oxide (XXV–XXVI) is still not precluded. The formation of myosmine (XXVII) (from tobacco smoke) must follow a similar route. The amine oxide hypothesis in these cases is strengthened by the recent elucidation of the structures of bacterial degradation products of nicotine[2]. The primary product is nicotine oxide (XXV) which is succeeded by N-methyl myosmine (XXVIII) and further oxidation products.



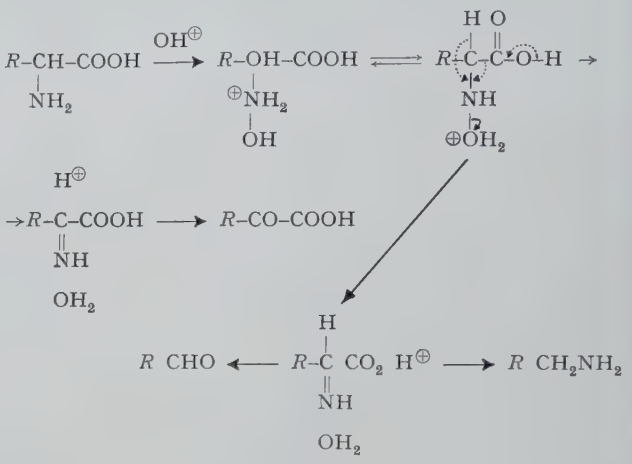
XXV

XXVI XXVII XXVIII

The α-amino alcohol group (or its equivalent) is an oxidized substituent next in prominence to the carbinol amine. It appears frequently in the senecio, tropane, pyrrolidine, pyridine, ephedra, phthalideisoquinoline and other alkaloids. Whereas its origin is quite obscure, most of Witkop's elegant work on the oxidation of indole derivatives[3] suggests the following biogenetic pathway:



In the fundamental reaction of alkaloid biogenesis[4] amines and aldehydes are considered generally the reacting species. Their actual formation in the plant from amino acid precursors is still extremely vague, if at all real. If their existence, however transient, be valid, a picture (*strictly formal*) of their origin involving spontaneous reactions can be drawn. By an oxidative step, again at the site of a nitrogen, an intermediate is obtained which in effect is a β-hydroxy acid. The latter would be expected to undergo dehydration or dehydration-decarboxylation. Although there is no evidence for this



scheme, it is interesting to note that in principle it is identical with the mechanism proposed for the pyridoxal-induced decarboxylation, deamination, deaminative decarboxylation and other reactions of amino acids prevalent in animal metabolism[1].

Zusammenfassung

Aminoxide werden als intermediäre Oxydationssubstanzen der Alkaloidbiogenese vorgeschlagen. Verschiedene Beispiele in dem Gebiet der Alkaloide werden erwähnt, um die Hypothese zu erklären.

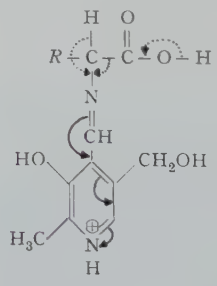
[1] R. F. Dawson, Adv. Enzymology *8*, 203 (1948).

[2] E. Wada and K. Yamasaki, Science *117*, 152 (1953).

[3] A. Ek, H. Kissman, J. B. Patrick, and B. Witkop, Exper. *8*, 36 (1952)]: B. Witkop and A. Ek, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5664 (1951). – B. Witkop and J. B. Patrick, ibid. *75*, 2572 (1953).

[4] G. K. Hughes and E. Ritchie, Rev. pure App. Chem. *2*, 125 (1952).

[1] E. E. Snell, 2nd Congr. intern. biochim., Chim. biol. V, Symposium metabolisme microbien (Paris) *1952*, 47. – The positive nitrogen atom in the pyridine nucleus of the pyridoxin complex (XXIX) acts in the manner as the positive oxygen in the hydroxy-amino acid complex above.



XXIX

STUDIORUM PROGRESSUS

Some Generalizations Relative to Lithium Aluminium Hydride Reactions

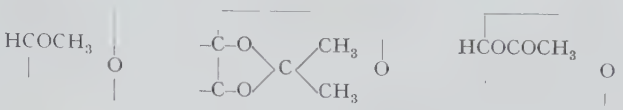
By Norman G. Gaylord, Buffalo, N. Y.[1]

A thorough examination of the chemical literature for the purpose of reviewing the reactions of lithium aluminium hydride (LAH) indicates that sufficient data are now available to permit the statement of several generalizations relative to the course of such reactions. Such generalizations permit the possible prediction of reaction products on a sound factual basis and serve an even more important function in guiding the elucidation of the structures of complex molecules. The present exposition is concerned with the reactions of organic molecules containing a carbon atom singly bound with two atoms from the group nitrogen, oxygen or sulfur, and where the two remaining valances of carbon are not doubly bonded.

The –O–C–O *grouping*

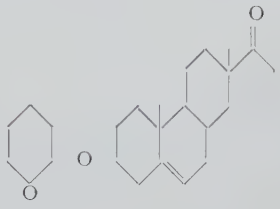
The use of acetals and ketals to protect carbonyl groups during LAH reductions has become widespread. These acetals have included open structures, as in acetal[2], as well as cyclic structures, as in the dioxolanes[3]. The latter type of compound has been used for the blocking of carbonyl groups or glycols in the LAH reduction of sugars[4], steroids[5] as well as other aliphatic and aromatic compounds[6]. Compounds containing the methylenedioxy group can be considered as cyclic acetals of formaldehyde and similarly are not attacked by LAH[7].

The reduction by LAH of pyranosides (I)[1], pyranose and furanose derivatives containing the partial structures II[2] or III[3], as well as disaccharides containing glycosidic linkages[4], results in the retention of these structural features.



I II III

The reaction of 2,3-dihydropyran with steroidal alcohols results in the formation of ethers such as IV. Reduction of IV with LAH results in conversion of the ketone group to a carbinol while the –OCO– group remains intact[5].



IV

Among the steroidal sapogenins, a 22,26-oxido-22-ol compound (V) has been subjected to LAH reduction. The initial product of the reaction containing the intact –OCO– group is apparently dehydrated readily to form an isospirostane (VI)[6].

[1] Contribution No. 8 from the Yerkes Research Laboratory, E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Buffalo 7, New York.

[2] C. S. Marvel and H. W. Hill, Jr., J. Amer. Chem. Soc. *73*, 481 (1951). – W. Swoboda, Mh. Chem. *82*, 388 (1951). – L. Schmid, W. Swoboda, and M. Wichtel, Mh. Chem. *83*, 185 (1952).

[3] M. Viscontini and C. Ebnöther, Helv. chim Acta *34*, 116 (1951).

[4] D. A. Prins, J. Amer. Chem. Soc. *70*, 3955 (1948). – H. Hauenstein and T. Reichstein, Helv. chim. Acta *32*, 22 (1949). – H. Schmid and P. Karrer, Helv. chim. Acta *32*, 1371 (1949). – L. F. Wiggins and D. J. C. Wood, J. Chem. Soc. *1950*, 1566. – M. Abdel-Akher and F. Smith, Nature *166*, 1037 (1950). – A. B. Foster and W. G. Overend, J. Chem. Soc. *1951*, 1132. – W. G. Overend, F. Shafizadeh, and M. Stacey, J. Chem. Soc. *1951*, 1487. – E. G. Ansall, J. Honeyman, and G. H. Williams, Chemistry a. Industry *1952*, 149.

[5] P. L. Julian, E. W. Meyer, and I. Ryden, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 756 (1949); *72*, 367 (1950). – L. H. Sarett, M. Feurer, and K. Folkers, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 1777 (1951).

[6] R. Grewe and E. Nolte, Ann. Chem. *575*, 1 (1951). – M. Stoll and M. Hinder, Helv. chim. Acta *34*, 334 (1951). – K. Brack and H. Schinz, Helv. chim. Acta *34*, 1523 (1951). – G. Stork and H. Conroy, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 4743 (1951). – J. C. Sheehan and B. M. Bloom, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 3825 (1952).

[7] H. Schmid and P. Karrer, Helv. chim. Acta *32*, 960 (1949). – K. E. Hamlin and A. W. Weston, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 2210 (1949). – A. Dornow, G. Messwarb, and H. H. Frey, Chem. Ber. *83*, 445 (1950). – M. Erne and F. Ramirez, Helv. chim. Acta *33*, 912 (1950). – W. J. Gensler and C. M. Samour, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 3318 (1950). – R. D. Haworth and L. Wilson, J. Chem. Soc. *1950*, 71. – R. Mirza and R. Robinson, Nature *166*, 271 (1950). – N. L. Drake and E. H. Price, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 201 (1951). – W. J. Gensler and C. M. Samour, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5555 (1951). – E. Larsson, Trans. Chalmers Univ. Technol., Gothenburg *94*, 15 (1950). – C. F. H. Allen and J. R. Byers, Jr., U. S. Patent 2,545,439 (March 20, 1951). – W. F. Bruce, U. S. Patent 2,597,446 (May 20, 1952). – R. Mirza, Exper. *8*, 258 (1952). – M. Semonsky, Chem. Listy *45*, 392 (1951).

[1] D. A. Prins, J. Amer. Chem. Soc. *70*, 3955 (1948). – H. Hauenstein and T. Reichstein, Helv. chim. Acta *32*, 22 (1949). – M. Abdel-Akher and F. Smith, Nature *166*, 1037 (1950). – W. G. Overend, F. Shafizadeh, and M. Stacy, J. Chem. Soc. *1951*, 1487. – E. G. Ansall, J. Honeyman and G. H. Williams, Chemistry a. Industry *1952*, 149. – B. Lythgoe and S. Trippett, J. Chem. Soc. *1950*, 1983. – R. Allerton and W. G. Overend, J. Chem. Soc. *1951*, 1480. – F. Smith, J. Chem. Soc. *1951*, 2646. – L. Hough, J. K. N. Jones and W. H. Wadman, J. Chem. Soc. *1952*, 796. – H. R. Bolliger and P. Ulrich, Helv. chim. Acta *35*, 93 (1952). – H. R. Bolliger and M. Thürkauf, Helv. chim. Acta *35*, 1426 (1952).

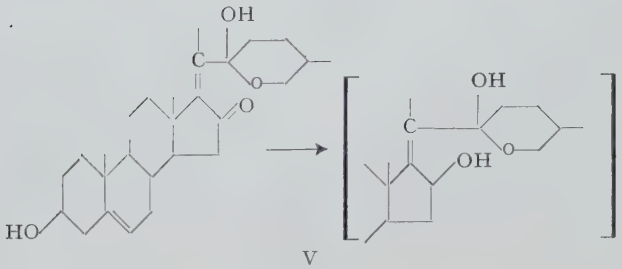
H. Schmid and P. Karrer, Helv. chim. Acta *32*, 1371 (1949). – J. C. Sowden, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 4377 (1952). – S. Roseman, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 4467 (1952).

[3] R. K. Ness, H. G. Fletcher, Jr., and C. S. Hudson, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 3742 (1951).

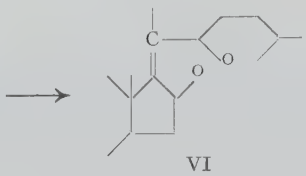
[4] M. Abdel-Akher and F. Smith, Nature *166*, 1037 (1950). – S. K. Chanda, E. L. Hirst, and E. G. V. Percival, J. Chem. Soc. *1951*, 1240.

[5] A. C. Ott, M. F. Murray, and R. L. Pederson, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 1239 (1952).

[6] A. Sandoval, J. Romo, G. Rosenkranz, S. Kaufman, and C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 3820 (1951). – A. L. Nussbaum, A. Sandoval, G. Rosenkranz, and C. Djerassi, J. Org. Chem. *17*, 426 (1952).



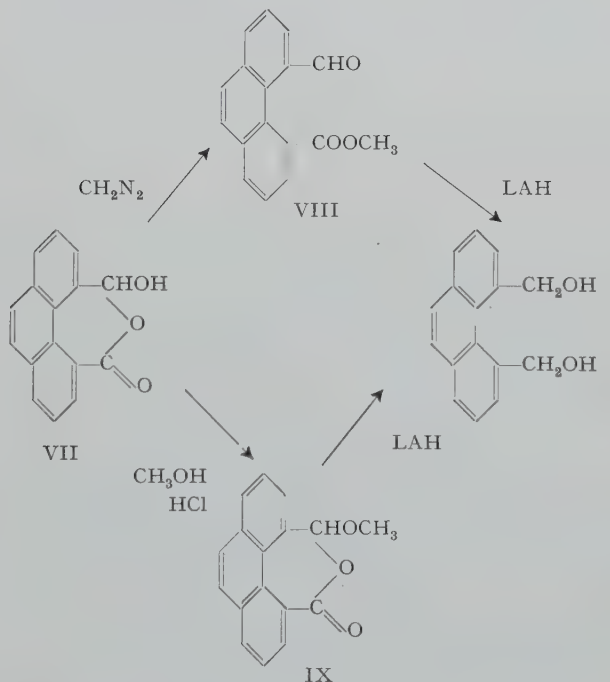
V



VI

Various isospirostanes such as VI have been subjected to LAH reduction and in all cases no reaction with the –OCO– linkage has occurred[1]. If the LAH reduction of the spirostane is carried out in the presence of anhydrous hydrogen chloride cleavage occurs at carbon 22 and opens the 22,26-oxido ring[2].

The foregoing data permits the generalization to be made that under the usual conditions the –O–C–O– grouping is not attacked by LAH.



VII VIII IX

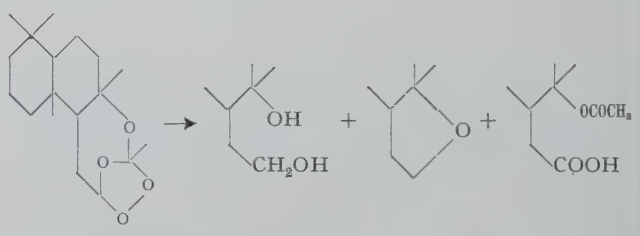
[1] R. Yashin, G. Rosenkranz, and C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 4654 (1951). – J. Pataki, G. Rosenkranz, and C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5375 (1951). – C. Djerassi, H. Martinez, and G. Rosenkranz, J. Org. Chem. *16*, 1278 (1951). – J. Romo, H. J. Ringold, G. Rosenkranz, and C. Djerassi, J. Org. Chem. *16*, 1873 (1951). – C. Djerassi, R. Yashin, and G. Rosenkranz, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 422 (1952). – C. Djerassi, E. Batres, M. Velasco, and G. Rosenkranz, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 1712 (1952). – R. Hirschmann, C. S. Snoddy, Jr., and N. L. Wendler, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 2693 (1952).

[2] H. M. Doukas and T. D. Fontaine, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5917 (1951).

The reactions of LAH and the pseudo esters of 4-formyl-5-phenanthrenecarboxylic acid[1] would appear to be an exception to this generalization. The aldehyde-acid, which gives no carbonyl derivatives, has been assigned the lactol structure VII. Treatment with diazomethane yields the normal aldehydo-ester (VIII), which forms carbonyl derivatives while acid-catalyzed esterification yields the pseudo ester (IX) which does not form such derivatives. However, on treatment with LAH both ester forms yield the same diol in excellent yield.

In this case it is probable that under the influence of LAH the pseudo ester is converted to the normal ester before reduction occurs. In this connection it is of interest that under the influence of aluminium isopropoxide, which might be expected in this respect to behave in a manner similar to that of LAH, the pseudo ester is converted to the lactone of 4-(hydroxymethyl)-5-phenanthrenecarboxylic acid[2]. It has been shown that in the case of substituted 2-benzoylbenzoic acids, which also form pseudo as well as normal esters, a keto acid-hydroxylacetone equilibrium exists[3].

The reported LAH reductions of ozonides introduce structural features which enable these reactions to fit within the scope of the generalization. Thus, the reduction of the ozonide X is reported to yield a glycol, the oxyde arising from the dehydration of the glycol and a trace of the ester-acid XI[4].



X XI

The initial reaction might involve cleavage of the peroxide linkage[5]. The isolation of XI among the reaction products indicates that the resultant ortho ester structure would be cleaved at the oxygen bridge occupying the site of the original double bond. The cleavage of a carbon-oxygen bond in ortho esters to form acetals has been reported[6]. The order of occurrence of the above cleavages may be reversed without impairing the reasoning. The resultant derivatives of XI would react normally with LAH to yield the indicated products.

The LAH reduction of the ozonide XII followed by hydrolysis and chromic acid oxidation is reported to yield the diketone XIII[7].

[1] M. S. Newman and H. S. Whitehouse, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 3664 (1949). – G. M. Badger, J. E. Campbell, J. W. Cook, R. A. Raphael, and A. I. Scott, J. Chem. Soc. *1950*, 2326.

[2] M. S. Newman and H. S. Whitehouse. J .Amer. Chem. Soc. *71*, 3664 (1949).

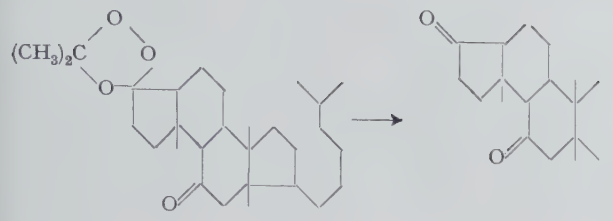
[3] M. S. Newman and C. W. Muth, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 4627 (1951).

[4] M. Hinder and M. Stoll, Helv. chim. Acta *33*, 1308 (1950).

[5] D. A. Sutton, Chemistry a. Industry *1951*, 272. – A. Mustafa, J. Chem. Soc. *1952*, 2435. – B. Witkop and J. B. Patrick, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 3855 (1952).

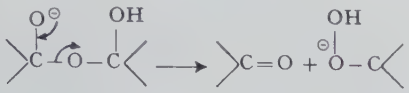
[6] C. J. Claus and J. L. Morgenthau, Jr., J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5005 (1951).

[7] W. Voser, D. E. White, H. Heusser, O. Jeger, and L. Ruzicka, Helv. chim. Acta *35*, 830 (1952).



XII XIII

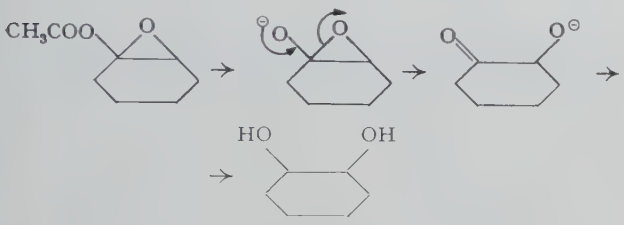
The cleavage of the peroxide linkage in XII would result in the formation of XIV which would be cleaved as shown.



XIV

The resultant carboxylic acid derivative would be reduced to the carbinol and chromic acid oxidation would yield the carbonyl function.

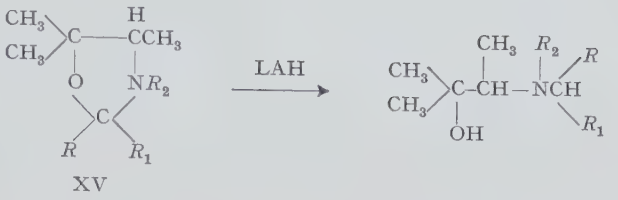
The reduction of 1-acetoxy-1, 2-epoxycyclohexane to yield a mixture of *cis-* and *trans*-cyclohexanediol-1, 2[1] can also be shown not to be contrary to the generalization. The presence of the acetoxy group results in the formation of an intermediate analogous to XIV which can undergo a similar reaction.



The –N–C–O– *Grouping*

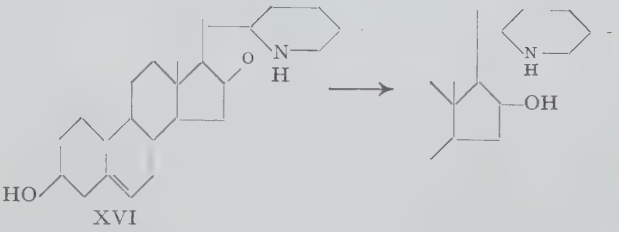
In the reductive cleavage of unsymmetrical epoxides, as in the steroids, by LAH, a secondary oxide linkage is cleaved in preference to a tertiary[2]. Similarly, LAH reductions of 1-cyano-1, 2-epoxycyclohexane and 1-methyl-1, 2-epoxycyclohexane yield the expected tertiary alcohols[3]. In contrast, LAH reduction of 1-dimethylamino-1, 2-epoxycyclohexane which contains an –NCO– linkage yields the secondary alcohol resulting from cleavage of the oxide ring at the tertiary carbon[3].

Treatment of oxazolidines (XV) with LAH results in cleavage at the C–O– linkage yielding α-aminoalcohols[4]. In this case the –NCO– grouping is part of a heterocyclic ring.



XV

In contrast to the stability of the –OCO– grouping in sapogenic spirostanes, the –NCO grouping in solasodine (XVI) is cleaved at the C–O– linkage with LAH[1].

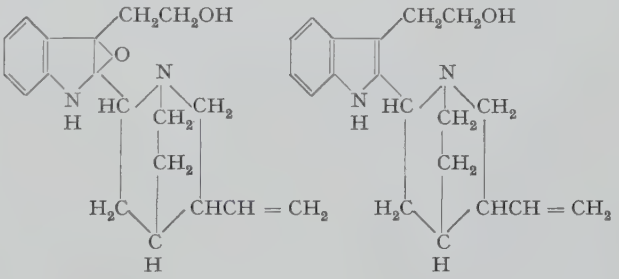


XVI

Solasodine hydrochloride behaves in a similar manner.

Tomatidine, the aglycone of tomatine extracted from tomato leaves, is reduced by LAH to dihydrotomatidine, the reaction being considered as the opening of an oxidic ring[2]. The identity of tomatidine and solasodanol, the saturated analog of XVI, has recently been reported[3].

The cinchona alkaloid quinamine was assumed to contain an epoxide group and on reduction with LAH gave cinchonamine. Goutarel *et al.*[4] therefore postulated the structure of quinamine as XVII and it was assumed that reduction of the epoxide group gave an alcohol which split out water to give cinchonamine (XVIII).



XVII XVIII

The intermediate dihydro derivative was isolated by Culvenor *et al.*[5] and subsequently dehydrated to cinchonamine by heat. The intermediate was not further examined and consequently the direction of ring opening to give the tertiary alcohol was not determined. Witkop[6]

[1] M. Mousseron, R. Jacquier, M. Mousseron-Canet, and R. Zagdoun, C. r. Acad. Sci. *235*, 177 (1952). – M. Mousseron, M. Canet, and R. Jacquier, Bull. Soc. chim. France [5] *19*, 698 (1952).

[2] P. A. Plattner, H. Heusser, and M. Feurer, Helv. chim. Acta *32*, 587 (1949).

[3] M. Mousseron and M. Canet, Bull. Soc. chim. France [5] *18*, 792 (1951). – M. Mousseron, R. Jacquier, M. Mousseron-Canet, and R. Zagdoun, C. r. Acad. Sci. *235*, 177 (1952).

[4] H. Heusser, P. T. Herzig, A. Fürst, and P. A. Plattner, Helv. chim. Acta *33*, 1093 (1950). – E. D. Bergmann, D. Lavie, and S. Pinchas, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5662 (1951).

[1] L. H. Briggs and R. H. Locker, J. Chem. Soc. *1950*, 3020.

[2] Y. Sato, A. Katz, and E. Mosettig, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 880 (1951); *74*, 538 (1952). – T. D. Fontaine, J. S. Ard, and R. M. Ma, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 878 (1951).

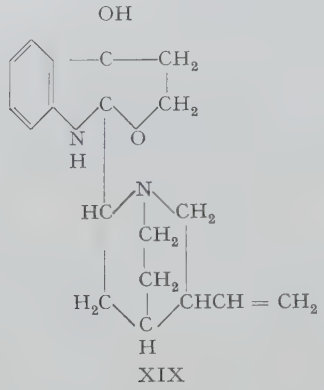
[3] T. D. Fontaine, referred to in L. H. Briggs, W. E. Harvey, R. H. Locker, W. A. Mc Gillivray, and R. N. Seelye, J. Chem. Soc. *1950*, 3013. – R. Kuhn and I. Löw, Chem. Ber. *85*, 416 (1952).

[4] R. Goutarel, M. M. Janot, V. Prelog, and W. I. Taylor, Helv. chim. Acta *33*, 150 1950).

[5] C. C. J. Culvenor, L. J. Goldsworthy, K. S. Kirby, and R. Robinson, J. Chem. Soc. *1950*, 1485.

[6] B. Witkop, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 2311 (1950).

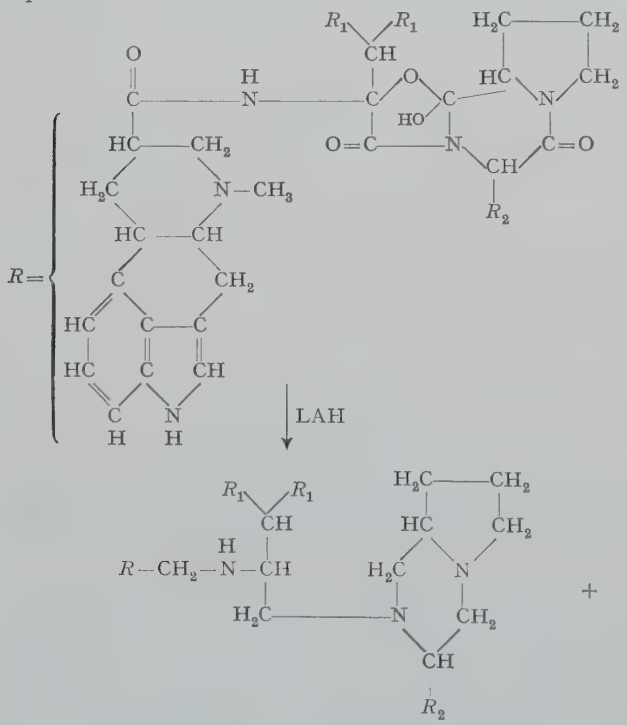
proposed a new structure for quinamine XIX. Although LAH reduction in this case does not distinguish between the two postulated structures, the intermediate cleavage product having the same structure in both cases, opening of the tetrahydrofuran ring does not seem improbable due to the presence of the –NCO– grouping.



XIX

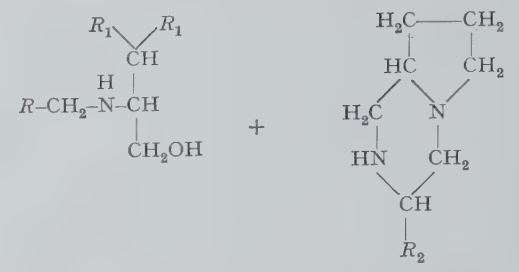
Epiquinamine which is considered as a diastereoisomer of quinamine due to epimerization at C_8 in the quinuclidene nucleus, is reduced by LAH to an isomeride of cinchonamine termed epicinchonamine[1]. The same structural considerations would apply in this case.

The dihydro derivatives of the ergot alkaloids, ergotamine, ergosine, ergocristine, ergocryptine, and ergocornine, have recently been subjected to LAH reduction and three reduction products have been isolated and their constitution and configuration identified by synthesis[2]. The reaction can be represented by the following equation:

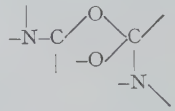


[1] C. C. J. Culvenor, L. J. Goldsworthy, K. S. Kirby, and R. Robinson, J. Chem. Soc. *1950*, 1485.

[2] A. Stoll, A. Hofmann, and T. Petrzilka, Helv. chim. Acta. *34*, 1544 (1951).



Examination of the postulated ergot structure reveals the presence of the following elements:



The reduction products, in all cases, reveal the cleavage of the C–O linkage. The generalization postulated here is further evidence for the structure advanced for the ergot alkaloids.

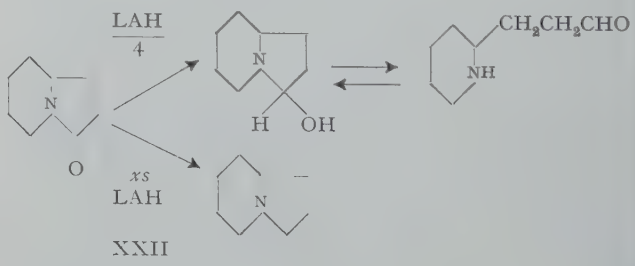
The LAH reduction of N-(α-alkoxybenzyl)-amides (XX) results in the cleavage of the C–O linkage as well as reduction of the amide grouping[1].

XX

The reduction of 2,3-diphenyl-2-ethoxyethylenimine (XXI) with LAH yields *cis*-diphenylethylenimine[2].

XXI

The reduction of N-methyl-α-pyrrolidone or 3-keto-octahydropyrrocoline (XXII) with one-quarter mole of LAH permits the isolation of the carbinol-amine in the form of the tautomeric aldehyde[3].



XXII

The use of excess LAH prevents the stopping of the reduction of the lactam at the intermediate stage. Here the first stage of the reduction proceeds to the carbinol-

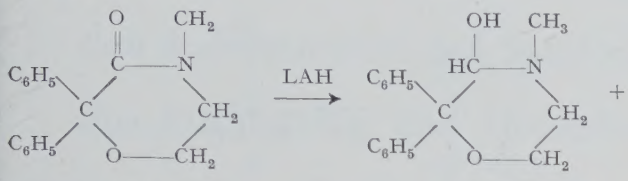
[1] A. W. Burgstahler, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 3021 (1951).

[2] M. J. Hatch and D. J. Cram, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 38 (1953).

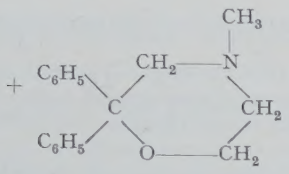
[3] F. Galinovsky and R. Weiser, Exper. *6*, 377 (1950). – J. A. King, V. Hofmann, and F. H. Mc Millan, J. Org. Chem. *16*, 1100 (1951). – F. Galinovsky, A. Wagner, and R. Weiser, Mh. Chem. *82*, 551 (1951). – F. Galinovsky, O. Vogl, and R. Weiser, Mh. Chem. *83*, 114 (1952).

amine containing the –NCO– grouping. Employment of excess LAH results in the cleavage of the C–O grouping.

Reduction of 3-keto-4-methyl-2, 2-diphenylmorpholine (XXIII) with 2 moles of LAH yields a mixture of 4-methyl-2, 2-diphenylmorpholine, the expected product, and 3-hydroxy-4-methyl-2, 2-diphenylmorpholine (XXIV)[1].

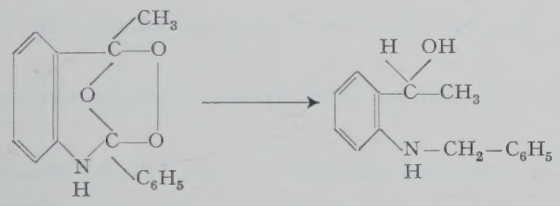


XXIII XXIV



The carbinol-amine (XXIV) is converted to the cyclic amine by the further action of LAH[1].

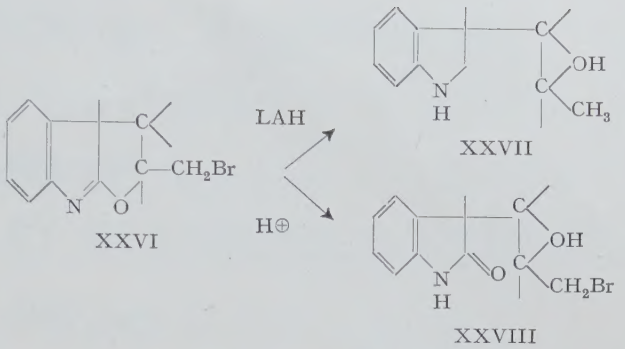
The recently reported[2] reductive cleavage of the stable ozonide of 2-phenylskatole (XXV) serves to illustrate two of the structural features discussed here.



XXV

The cleavage of the peroxide linkage and the cleavage of both –NCO– linkages result in the formation of a carboxylic acid derivative whose normal LAH reduction yields the indicated product.

Reaction of gelsemine with bromine in a chloroform solution yields bromoallogelsemine hydrobromide (XXVI). Treatment of XXVI with LAH in dioxane gives a compound $C_{20}H_{26}O_2N_2$ for which the constitution of desoxohydroxytetrahydrogelsemine (XXVII) has been advanced. On warming XXVI with acid one mole of water is taken up and a compound is formed which is formulated as bromohydroxydihydrogelsemine hydrobromide (XXVIII). The reduction of XXVI to XXVII with LAH is postulated as proceeding through XXVIII[3].

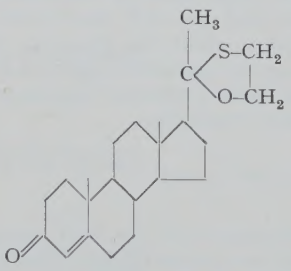


The anhydrous medium utilized in LAH reductions should preclude XXVIII as an intermediate in the reduction. A more likely explanation involves the reduction of the –N=C–O– grouping to –NH–CH–O–, followed by cleavage of the latter under the influence of LAH to yield XXVII.

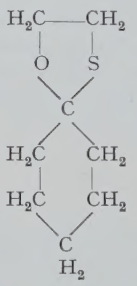
From this multitude of reported reductions, the generalization can be made that under the usual conditions the –N–C–O– grouping is attacked by LAH to yield products resulting from cleavage of the C–O linkage.

The –S–C–O– *grouping*

Analogous to the use of acetals for the protection of carbonyl groups during LAH reductions, is the use of hemithioketals (XXIX) for the same purpose[1]. Similarly, 1, 3-thioxolanes (XXX) are not cleaved by LAH[2].



XXIX



XXX

Thus, the –S–C–O– grouping as well as the –O–C–O– grouping is not attacked by LAH.

The –N–C–S– *Grouping*

Reduction of l-nitroethyl p-tolylsulfide (XXXI) with LAH yields thiocresol among the reaction products[3].

[1] A. L. Morrison, R. F. Long, and M. Königstein, J. Chem. Soc. *1951*, 952.

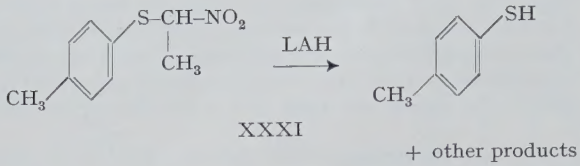
[2] B. Witkop and J. B. Patrick, J. Amer. Chem. Soc. *74*, 3855 (1952).

[3] R. Goutarel, M. M. Janot, V. Prelog, R. P. A. Sneeden, nd W. I. Taylor, Helv. chim. Acta *34*, 1139 (1951).

[1] J. Romo, G. Rosenkranz, and C. Djerassi, J. Amer. Chem Soc. *73*, 4961 (1951); Abstracts of Papers, XII[th] International Congress of Pure and Applied Chemistry, New York, September 1951, p. 406.

[2] E. D. Bergmann, D. Lavie, and S. Pinchas, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5662 (1951).

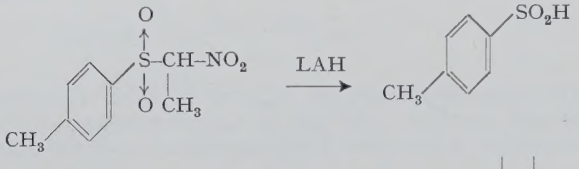
[3] N. Kharasch and J. L. Cameron, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 1077 (1953).



XXXI

+ other products

LAH reduction of the corresponding sulfone yields p-toluenesulfinic acid in good yield.



In these cases, scission of the C–S bond in an $-\overset{|}{\underset{|}{N}}-\overset{|}{\underset{|}{C}}-S-$ grouping has occurred under the influence of LAH.

Although it might not be pertinent in this consideration of singly bonded groupings, it is of interest to note that thiocyanates, containing the grouping –S–C≡N, are reduced by LAH to thiols indicating, as above, cleavage of the C–S bond[1].

Due to the lack of additional types of compounds containing the $-\overset{|}{\underset{|}{N}}CS-$ grouping and the possible effect of the nitro group, a generalization cannot with justification be made in this case although the reported results appear to fall within the scope of this discussion.

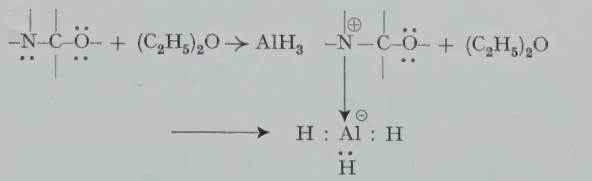
Mechanism

Paddock has shown that ether plays an essential part in LAH reductions[2]. The analogy with the GRIGNARD reagent has been extended to show the necessity for a donor solvent and evidence for monoetherate formation has been obtained. On this basis, PADDOCK has suggested that there is an equilibrium in solution

$$AlH_4^- \rightleftarrows H^- + AlH_3$$

and that the ether coordinates with the AlH_3 and the active entity in LAH reactions is the hydride ion.

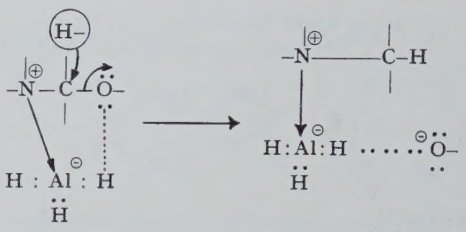
If we utilize this suggestion we see that the cleavages and non-cleavages discussed above can be explained by analogy with GRIGNARD reactions. Thus, in the case of the $-\overset{|}{\underset{|}{N}}-\overset{|}{\underset{|}{C}}-O-$ grouping coordination of the available electron pair on nitrogen can occur with AlH_3



[1] M. MOUSSERON and M. CANET, Bull. Soc. chim. France [5] 18, 792 (1951). – J. STRATING and H. J. BACKER, Rec. Trav. chim. *69*, 638 (1950); *69*, 909 (1950). – J. STRATING, U. S. Patent 2,549,991 (April 24, 1951); German Patent 820,435 (November 12, 1951).

[2] N. L. PADDOCK, Nature *167*, 1070 (1951).

The tendency for the electron pair on oxygen to take part in hydrogen bonding results in the formation of a quasi ring such as has been postulated in many GRIGNARD reactions. The electron deficient nitrogen would tend to withdraw electrons from the adjacent carbon giving the latter a positive character. The hydride ion present in the solution, according to PADDOCK's postulation, could displace the ethereal oxygen resulting in cleavage of the C–O bond:



In the case of the $-O-\overset{|}{\underset{|}{C}}-O-$ grouping there is no reason to believe that the electron pair on oxygen should displace the electron pair on oxygen in the weakly acidic aluminium hydride monoetherate. The fact that cleavage of the spirostanes can be induced by carrying out the LAH reduction in the presence of hydrogen chloride[1] supports this view. In the case of the $-S-\overset{|}{\underset{|}{C}}-O-$ grouping the same considerations hold.

Zusammenfassung

Unter den gewöhnlichen Reaktionsbedingungen bleiben $-O-\overset{|}{\underset{|}{C}}-O-$ und $-S-\overset{|}{\underset{|}{C}}-O-$Gruppen durch $LiAlH_4$ unverändert, während $-\overset{|}{\underset{|}{N}}-C-O-$ und möglicherweise auch $-\overset{|}{\underset{|}{N}}-\overset{|}{\underset{|}{C}}-S-$Gruppen an der C–O– bzw. C–S-Bindung gespalten werden. Diese Verallgemeinerungen, die sich auf aliphatische und aromatische Verbindungen, Zucker und Steroide, anwenden lassen, werden zur Bestätigung kürzlich aufgestellter Steroid- und Alkaloidformeln herangezogen. Es wird ein Reaktionsmechanismus vorgeschlagen.

[1] H. M. DOUKAS and T. D. FONTAINE, J. Amer. Chem. Soc. *73*, 5917 (1951).

Corrigendum

P. LOUIS, *Recherches sur la fraction Y des protéines de muscles de Lapin*, Exper. *10*, 258 (1954).

Dans la figure 1, fraction Y après 20640 s d'électrophorèse à 4,12 V/cm, μ 0,10, pH 7,6, la partie supérieure du cliché représente la frontière descendante et la partie inférieure la frontière ascendante.

Die Erforschung der Wirkstoffe des Mutterkorns beschäftigte namhafte Chemiker und Apotheker während Jahrzehnten. Einen ersten Markstein bedeutete die Entdeckung und Reindarstellung des Alkaloids Ergotamin in den Laboratorien der Sandoz A.G., wo in der Folge auch die Auffindung und Herstellung weiterer für die Medizin äusserst wertvoller Mutterkorn-Reinalkaloide gelang. Neue therapeutische Aspekte eröffnete die erstmals bei Sandoz erfolgte Hydrierung dieser Stoffe. Folgende Präparate sind das Ergebnis dieser Forschungen:

Cafergot

Dihydroergotamin-Sandoz

Gynergen

Hydergin

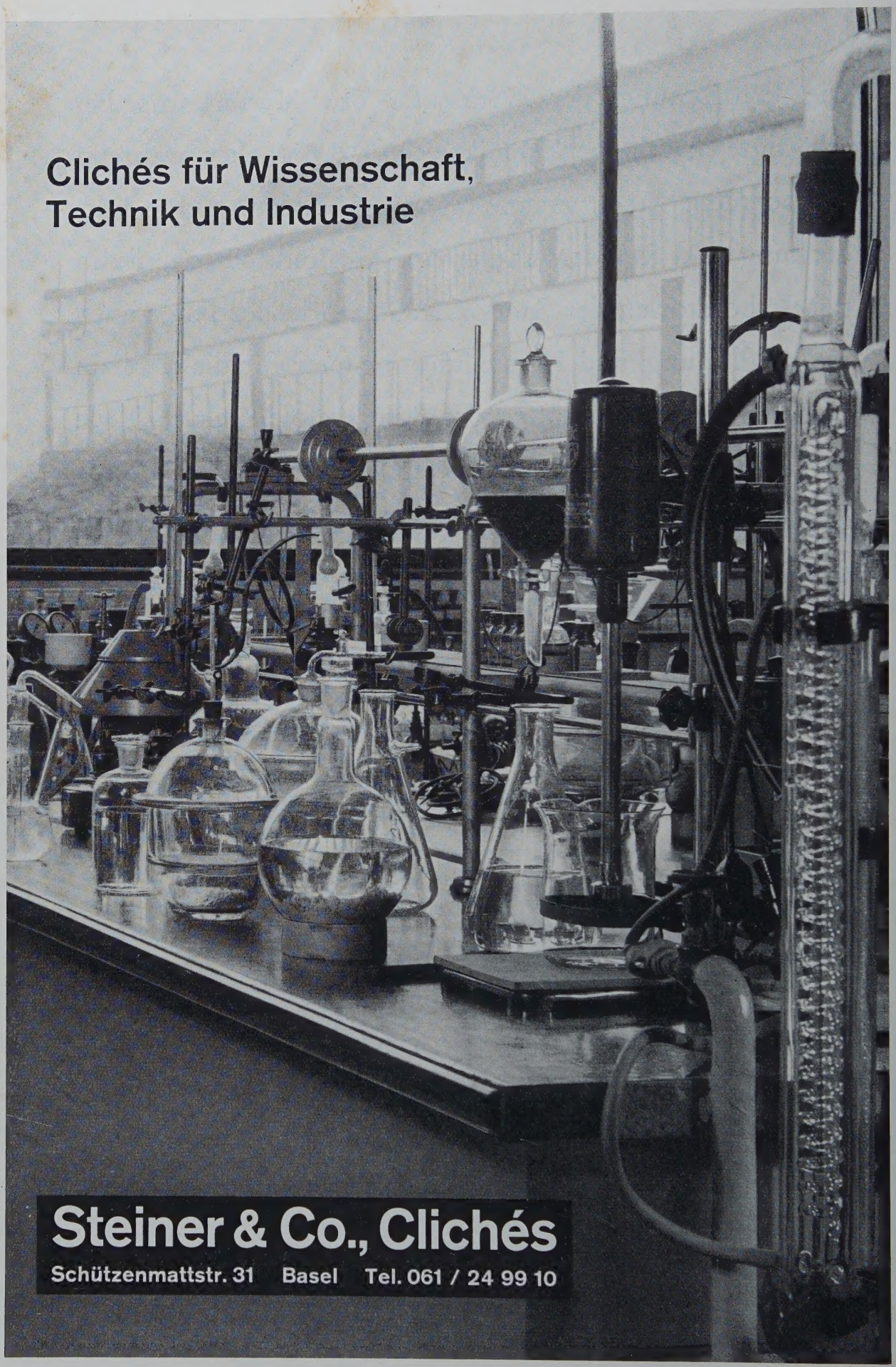
Methergin

Neo-Gynergen

Partergin

SANDOZ

S A N D O Z A. G.


Clichés für Wissenschaft,
Technik und Industrie
Steiner & Co., Clichés
Schützenmattstr. 31 Basel Tel. 061 / 24 99 10